

SZIRÁNYI BARBARA MÁRIA

**ENERGETIKAI CÉLOKRA HASZNÁLT TERMÁLVIZEK BEFOGADÁSÁRA
SZOLGÁLÓ TÁROZÓTAVAK MIKROBIÁLIS DIVERZITÁSA**

-doktori értekezés-

Témavezető
Dr. Borsodi Andrea
habil. egyetemi docens

Biológiai Doktori Iskola vezetője
Prof. Dr. Erdei Anna

Zootaxonómia, állatökológia, hidrobiológia
doktori program vezetője
Prof. Dr. Török János



ELTE TTK Biológiai Intézet, Mikrobiológiai Tanszék
BUDAPEST
2019

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés.....	2
2.1 Magyarország geotermális adottságai és azok kihasználtsága.....	2
2.2 Használat utáni elhelyezés, visszasajtolási lehetőségek és korlátozó tényezők.....	5
2.3 A szarvasi Barex Kft. által üzemeltetett termelőkutak vizének kémiai és mikrobiológiai tulajdonságai.....	8
2.4 A szarvasi Therm-Organ-tó mikrobiológiai vizsgálatának eredményei.....	9
2.5 Alkalikus-szalinikus sekély tavak mikrobiológiája.....	11
2.6 Fenolvegyületek biodegradációja alkalikus-szalinikus környezetekben.....	19
3. Célkitűzések.....	23
4. Anyag és módszer.....	24
4.1 A vizsgálati helyszín bemutatása.....	24
4.2 Mintavételezés.....	25
4.3 A vizsgált évekre jellemző időjárási viszonyok.....	28
4.4 Vízhőmérsékleti vizsgálatok.....	29
4.5 Epifluoreszcens mikroszkópos sejtszám meghatározás.....	30
4.6. Tenyésztésen alapuló vizsgálatok.....	30
4.6.1 Baktériumtörzsek izolálása.....	30
4.6.2 A baktériumtörzsek genotípusos vizsgálata.....	30
4.6.3 ARDRA alapú csoportosítás.....	31
4.6.4 A DNS bázissorrendjének meghatározása és a szekvenciák értékelése.....	32
4.7 Tenyésztéstől független közösségszerkezeti vizsgálatok.....	33
4.7.1 Mintaelőkészítés és közösségi DNS izolálás.....	33
4.7.2 Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE).....	33
4.7.3 Molekuláris klóntárak létrehozása és feldolgozása.....	35
4.7.4 A mikrobaközösségek összetételének feltárása piroszekvenálással.....	37
4.7.5 Adataink statisztikai elemzése és az alkalmazott diverzitás indexek.....	39
5. Eredmények ismertetése.....	41
5.1 A vízminőségi vizsgálatok eredményei.....	41
5.2 Az epifluoreszcens mikroszkópián alapuló sejtszámlálás eredményei.....	46
5.3 A tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményei.....	47
5.3.1 Csíraszámbecslés.....	47
5.3.2 A baktériumtörzsek azonosítása.....	47
5.4 A denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) vizsgálatok eredményei.....	50

5.5 A molekuláris klontárak feldolgozásának eredményei	55
5.5.1 A molekuláris klontárak alfa-diverzitása	56
5.5.2 A molekuláris klontárak béta-diverzitása	58
5.5.3 A molekuláris klontárak taxonómiai diverzitása	60
5.6 A pirosekvenálással végzett közösségfeltárás eredményei	68
5.6.1 Az amplikontárak alfa-diverzitása	68
5.6.2 Az amplikontárak béta-diverzitása	69
5.6.3 Az amplikontárak filogenetikai diverzitása	71
6. Eredmények értékelése	81
6.1 A tőrendszerben bekövetkező tér- és időbeli változások, és a tavak közötti közösség szerkezeti eltérések	81
6.2 A taxonómiai, különös tekintettel az extrémofil (alkalofil, halofil) szervezetek diverzitásának összevetése hasonló élőhelyekével	87
6.3 Anyagátalakítási folyamatok a tározótó rendszerben	95
6.3.1 Szén körforgalom	95
6.3.2 Nitrogén körforgalom	100
6.3.3 Kén körforgalom	102
7. Összegzés	106
7.1 Következtetések és továbblépési lehetőségek	110
8. Kivonat	112
9. Abstract	113
10. Köszönetnyilvánítás	114
11. Idézett irodalom	115
12. Függelék	124
DOI adatlap	131

1. Bevezetés

Hazánk termálvízádottságait tekintve Európában vezető helyen áll; jelentős mennyiségű alacsony és közepes entalpiájú, közvetlen hasznosításra és villamosenergia-termelésre alkalmas geotermális potenciállal rendelkezik (Árpási 1992, 1998, 2003; Árpási és Szabó 1999; Bobok, Mating, és Navratil 1988; Boldizsár 1967; Korim 1998). Magyarországon a közvetlen használatra termelt termálvizek mennyisége 2002-ben hozzávetőleg 22 millió m³ volt, 31 °C-os átlagos felhasználási hőmérséklettel. A geotermális energia fő fogyasztója a mezőgazdaság (Árpási 2003).

A hazai termálvizek túlnyomó része alkáli-hidrogénkarbonátos, alkáli-karbonátos víz. Kémiai és biológiai oxigénigényük a redukált állapotú szerves anyagok és szervesetlen vegyületek magas koncentrációja miatt jelentős (Pekár 2008). A Kárpáti és mtsai (1999) által vizsgált termálvizek mindegyike többféle poliaromás szénhidrogént, sok esetben fenolokat tartalmazott.

A használt termálvíz a természetes vizekhez képest magasabb hőmérséklete, pH-ja, só- és fenoltartalma miatt nem vezethető vissza közvetlenül a felszíni élővizekbe (Pekár 2008), így a felhasznált vízmennyiség döntő hányadát ún. hűtőtavas átmeneti tározás után vezetik felszíni folyóvízbe, általában az öntözési idényen kívül. Az ilyen mesterséges vizes élőhelynek számos előnye van: természetközeli megoldás, könnyen beilleszthető a jelenlegi felszíni elhelyezési gyakorlatba, a felszín alatti vizet felszíni vízzé alakítva és visszatartva növeli a felszíni vízkészleteket, értékes vizes élőhelyeket teremt és ökoszisztéma szolgáltatásokat nyújt (de Groot, Wilson, és Boumans 2002; Oláh 2006). A hűtőtavas megoldás hátrányai közé tartozik viszont, hogy a téli időszakban alacsonyabb hatékonyságú, ami nem elhanyagolható tény, tekintve, hogy a termálvizek fűtési célokra történő felhasználása ekkor a legintenzívebb.

Magyarország délkeleti részén, a Szarvas környéki mélyfúrások során nagy nyomás alatt lévő, oldott és gázállapotú szénhidrogénnel kevert 96 °C-os termálvizet találtak. A fenol-tartalom kizárta a rekreációs célokra történő hasznosítást, azonban elkezdődött az energiacélú termálvíztermelés a helyszínen. A felhasználás után a kinyerés helyére való visszasajtolás ezen termelőkutak esetében még nem megoldott, így a használt termálvíz elvezetésére az 1980-as évek elején a helyszínen, több hűtő-tározó tavat létesítettek. Ezek közé tartozik a Barex Kft. üzemeltetésével működő négy földmedrű és csatornák révén sorbakapcsolt tóból álló rendszer, melyben a vízszint gravitációsan egyenlítődik ki.

Kutatásaink során ennek a tórendszernek a mikrobaközösségeit és azok változásait tanulmányoztuk a tavak fizikai és kémiai paramétereinek változásaival összefüggésben.

2. Irodalmi áttekintés

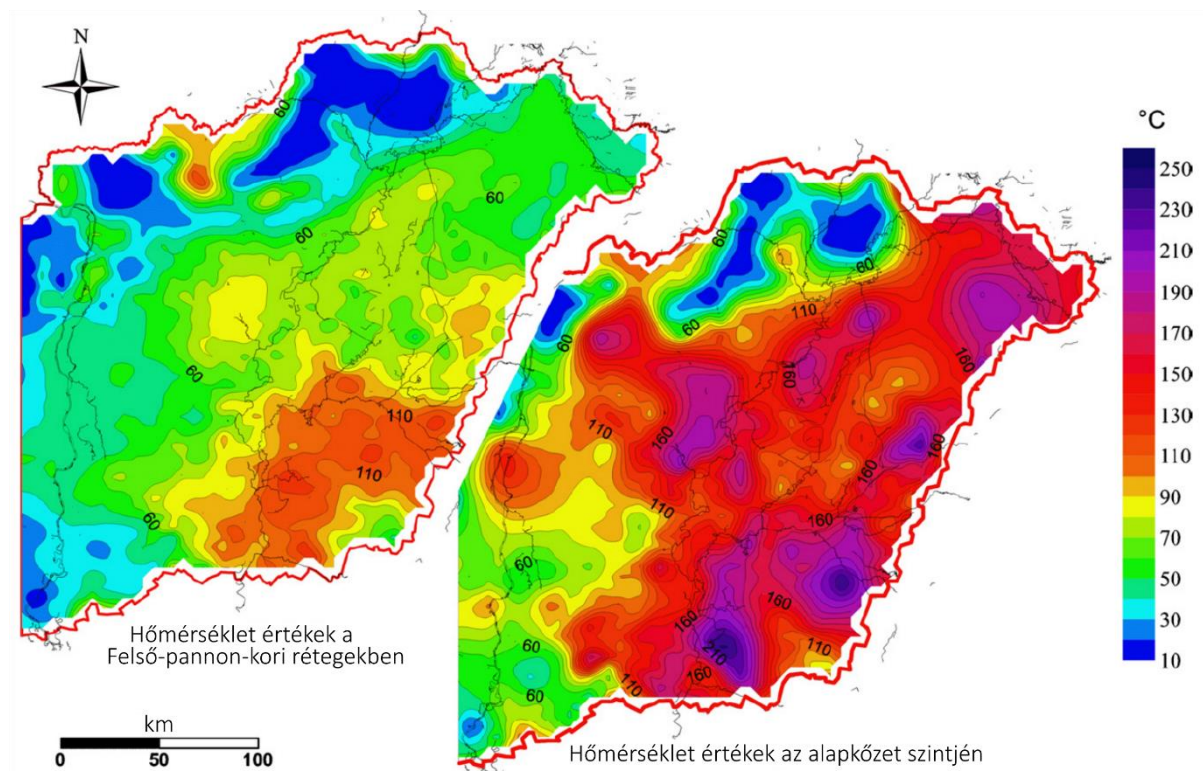
2.1 Magyarország geotermális adottságai és azok kihasználtsága

Hazánk geotermális energiáját kis és közepes entalpiájú termálvizek képezik (60-100 °C közötti hőmérséklettel), melyek főleg pliocén időszi homokkő rétegekből, valamint töredezett, triász kori mészkőrétegekből származó rétegvizek, bár Magyarország területén található néhány, jóval 100 °C feletti hőmérsékeltű gőzkút is (pl.: Fábiansebestyénben). Ezek a kőzetek – annak ellenére, hogy mélyen fekszenek – megőrizték elsődleges porozitásukat, de másodlagos üregek is képződhetnek bennük karsztképződés, valamint tektonikus és hidraulikus töredezés által (Árpási, Lorberer, és Pap 2000).

Hazánk geotermális vizeit nem vulkanikus tevékenység táplálja; a Kárpát medence vulkánjai a korai pleisztocénben voltak utoljára aktívak; termálvizeink mégis hővezetés révén jutnak energiához a kéreg alatti magmatikus folyamatoknak köszönhetően. Tehát, hazánk az egyedülálló termálvíz adottságait annak köszönheti, hogy a Kárpát-medencére jellemző különleges földkéregstruktúra, mely geotermális anomáliákhoz vezethet, kedvező hidrogeológiai tulajdonságokkal társul (Korim 1972; Lenkey és mtsai 2001). Szeizmikus, gravitációs és geoelektrikus méréseknek köszönhetően ismert, hogy a földkéreg a Kárpát-medence területén 8-10 km-rel vékonyabb, mint Európa kontinentális átlaga, mely valószínűleg az Alpok felgyűrődésével áll összefüggésben (Korim 1972). A Pannon-medence és annak tágabb környezete is jelentősen különbözik; míg a medence alatt 60-100 km-es a litoszféra vastagsága, környezetében ez 120-240 km-re emelkedik (Mádlné Szőnyi és mtsai 2013). A Kárpát-medencében a geotermikus grádiens mértéke 45 °C/km, melyhez hasonló, vagy magasabb értékekkel Európán belül csak Izland, Olaszország és Franciaország egyes területei rendelkeznek. A kontinensekre a 65 mW/m²-es földi hőáram jellemző, ehhez képest a Pannon-medence területén ez 90-100 mW/m²-re nő (Mádlné Szőnyi és mtsai 2013).

A rétegvizeknek két típusa ismert; a felszínhez közeli, gravitáció útján összegyűlő, áramló rétegvíz, valamint a mély, pleisztocén-kori, túlnyomás útján létrejövő felszín alatti vízrendszer. Ez utóbbi esetében a túlnyomás (10 Mpa) a formációk tektonikus kompressziójából adódik, de az érési folyamat során történő gázképződés is kulcsszerepet játszik benne. Az alapkőzetet az utóbbi esetben metamorf és karbonátos kőzetek alkotják (Szanyi és Kovács 2010).

Termálkutakat Magyarországon több mint 150 éve használnak, de a kitermelés mértéke az utóbbi évtizedekben nőtt meg jelentős mértékben. Termálkútnak a 35 °C feletti vizet szolgáltató kutak minősülnek, de további kutak is ismertek, melyek vízhőmérséklete 26-34 °C között változik. Jelenleg több, mint 950 termálkút található hazánkban, főleg Északkelet-Magyarországon (Egerszalók, Tura), az Alföld délkeleti részén (Szentés, Hódmezővásárhely, Szeged, Szarvas), valamint hazánk nyugati részén (Zalakaros, Hévíz, Bősárkány, Kapuvár) és Budapesten is (Szanyi és Kovács 2010). Kelet-Magyarország geotermális adottságait a 2.1-es ábra szemlélteti.



2.1 ábra – Kelet-Magyarország geotermális hőterképe két, különböző mélységben mintázva
Az eredeti ábra Szanyi János és Kovács Balázs 2010-es cikkéből származik.

Az első geotermális kutat Harkányban fúrták 1865-ben, de az első világháború után számos feltáró fúrás történt, melyek célja a szénhidrogén-lelőhelyek felderítése volt. 1958-ban kezdték el Magyarországon a termálvizet mezőgazdasági célokra alkalmazni Szentés környékén, de 1998-ban megkezdte működését a Hódmezővásárhelyi Geotermikus Fűtési Rendszer, mely a mai napig hazánk egyik legkomplexebb, használatban lévő kaszkádrendszere és fenntarthatóan – visszasajtolásos technikát alkalmazva – működik, két termelő és két visszasajtolókút közreműködésével, az 50 000 lakosú várost kiszolgálva. Hódmezővásárhelyen további tíz termálkút biztosítja 3000 lakás, valamint számos középület melegvízigényét, beleértve uszodákat is, ahol a víz balneoterápiára is használható (Szanyi és Kovács 2010).

Szegeden az 1960-as évek során, szénhidrogén kereső felderítőfúrások alkalmával 1500-3500 méter mély kutakat fúrtak, melyek közül megközelítőleg 40 kút bizonyult alkalmasnak termálvíz hasznosításra. Ezek fele azóta bezárt, mivel a vonatkozó törvények visszasajtolókutak telepítését írták elő, melyek kiépítésére nem állt rendelkezésre anyagi keret. Az itt üzemelő kutak közül az 1990-es évekig többet túlhasználtak, ami a víznyomás és a rétegvizek szintjének drasztikus csökkenését eredményezte, mely csak annak következtében kezdett helyreállni, hogy 1992-ben a vízkitermelési adók kivetése és a használt termálvíz szakszerűtlen felhasználását büntető bírságok következtében a felhasználás lecsökkent (Szanyi és Kovács 2010).

John W. Lund a geotermális energia világszintű hasznosítását 2009-ig összesítette (Lund 2010). Észrevételei alapján Magyarország ötödik helyen szerepel a területre jutó éves (terajoule/év/népesség) geotermális energia felhasználását illetően, csak Hollandia, Svájc, Izland és Svédország előzik meg a rangsorban.

Szentes jelenleg Magyarország legnagyobb hévízfeltáró színtere, itt létesült eddig a legtöbb termálkút. Az elsődleges felhasználás itt fűtésre irányul, a másodlagos felhasználás balneológiai célú; a város 1957-ben fúrt első kútjának vize gyógyvíz. Az alkáli-hidrogén-karbonátos, fluoridos melegvíz oldott ásványianyag-tartalma meghaladja a 2 g l^{-1} mennyiséget, ezért a Magyar Balneológiai Intézet besorolása alapján 1967-ben gyógyvízzé nyilvánították (Csikai 2008). Jelenleg 20 kút termel a térségben 60°C feletti, és további 12 kút 90°C feletti termálvizet. Kezdetben a víz csak a település melegvízigényét szolgálta ki, de ma már főleg fűtésre, valamint a mezőgazdaságban és az állattartásban hasznosítják (Szanyi és Kovács 2010).

Magyarországon a működésben lévő 950 termálkút közül összesen 220 vizét használják balneológiai célokra, további 200 kút tölt be szerepet a lakosság vízellátásában, valamint megközelítőleg 200 kút vizét hasznosítják a mezőgazdaságban és az állattartásban, melyeknek fele 70°C feletti vizet termel (Szanyi és Kovács 2010). Az utóbbi esetben a geotermális vizeket használhatják gabonaszárításra, állattartó telepek, fóliasátrak, üvegházak és gépműhelyek fűtésére, valamint keltetőüzemek (csirke, pulyka) állandó hőmérsékletének biztosítására (Csikai 2008).

Ahhoz képest, hogy hazánk geotermális adottságai régóta ismertek, viszonylag későn, csupán 2017-ben, egy éve nyílt meg az első geotermális kiserőművünk, Turán (a fővárostól 50 kilométerre keletre), mely hozzávetőlegesen 800 családi ház éves villamosenergia-igényét fedezheti (hvg.hu 2017).

2.2 Használat utáni elhelyezés, visszasajtolási lehetőségek és korlátozó tényezők

A használt geotermális vizek legegyszerűbb és legolcsóbb elhelyezése, egyben a környezet számára a legkedvezőtlenebb megoldás a felszíni víztestekbe történő közvetlen beengedés, ami számos negatív hatást gyakorolhat a befogadó élővizekre. Amennyiben a víz nem hűlt le a felhasználás alatt a környezet hőmérsékletére, beengedése a felszíni víztestekbe hőszennyezést okozhat. A dél-alföldi geotermális vizek magas nátrium-hidrogénkarbonát tartalmuknak köszönhetően alkalikusak, ez megváltoztathatja a befogadó vizek kémhatását is. A magas nátrium-hidrogénkarbonát tartalom mellett dél-alföldi termálvizeink nagy része fenolvegyületeket és ammóniát is tartalmaz, melyek szintén veszélyeztethetik az élővilágot. A fenolvegyületek 70-80%-a képes kilevegőzés útján távozni, azonban a fennmaradó 20-30% jelentős környezeti kockázatot jelent (Csiszár 2013).

A felszíni használt termálvíz elhelyezésre példa az izlandi Nesjavellir geotermális mezőről származó termálvizek egy részének a Thingvallavatn-tó déli részébe engedése; bár itt kevés termálvíz érkezik egy rendkívül kiterjedt víztestbe, és a kémiai összetétel is lényegesen különbözik a Dél-Magyarországon kinyert termálvizektől. Az izlandi Nesjavellir geotermális mező kedvező tulajdonságait 1986 óta hasznosítják; a helyszínen egy erőmű épült, mely a kinyert termálvizet és gőzt (13 kútból) használja távfűtésre és melegvíz ellátásra. Az erőmű 560 liter 82 °C-os vizet termel másodpercenként, így fedezi Reykjavík távfűtés- és melegvízigényének nagy részét. A kinyert termálvíz annak kémiai összetétele miatt nem használható közvetlenül, így az erőműben hideg, felszínközeli talajvíz felmelegítésére használják. Az itt felhasznált termálvíz egy részét visszasajtolják, bár egy másik hányada a felső talajvíz rétegeibe kerül és a porózus vulkanikus alapkőzet repedésein keresztül eléri a tektonikus eredetű Thingvallavatn tavat, annak délnyugati oldalán. A víz két, partközeli forráson keresztül éri el a tavat az aljzat szintjén és lokálisan okozhat 10-17 °C hőmérsékletkülönbséget is, ezzel időszakos hőstresszt okozva. A kitermelt termálvíz mikroelemekben is gazdag, melyek a felhígulás után általában nem okoznak környezetvédelmi problémát. Ezek közül a szilícium-dioxid, az arzén, a molibdén és a bór kivételt jelent, melyek miatt szükséges a folyamatos monitorozás és a visszasajtolás további kiterjesztése. Egy tanulmány szerint a hőmérsékleti stressz káros hatással volt a *Radix peregra* csigafajra, valamint a jelen lévő árvaszúnyogfajokra (Chironomidae). Utóbbiak fajgazdagsága jelentősen lecsökkent: a hőszennyezéssel érintett területeken csupán két faj volt megtalálható (Snorrason 2011; Wetang'ula és Snorrason 2005).

A használt termálvizek elhelyezésére egy környezetbarátabb alternatívát szolgáltat a vizek ideiglenes, mesterséges tározótavakban történő inkubálása. Ez lehetőséget nyújt a víz lehűlésére és kémiai átalakulására, azonban a nagy sótartalom okozta problémára nem jelent megoldást. Szentesen fél évszázada zajlik termálvíz kitermelés és igen sűrűn helyezkednek el a településen termálkutak, de visszasajtolókút még nem létesült. Létrejött azonban egy két tóból álló hűtő-tározó rendszer, melyet egy szentesi zöldségkertészetből elfolyó hévíz számára hoztak létre a város határában. A felhasznált termálvíz a Kurca-csatornán keresztül kerül két, közvetlenül egymás mellett fekvő hűtő-tározó tóba, mely Közép-Európa legnagyobb termáltava (Csiszár 2013; Szanyi és Kovács 2010). A szentesi Termáltó két medencéből áll (2.2 ábra); míg az első 40 hektáros tó otthont ad halaknak és békáknak, fészkelő- és pihenőhelyet nyújt 176 madárfajnak (emiat védett helyé is nyilvánították – a tavak partjai és nádöve a Cserebökényi-puszták Natura 2000 terület oltalma alá tartoznak), a második, 100 hektáros tó főleg sporttevékenységek színtere (Csikai 2008). Ez jó példa arra, hogy a használt geotermális vizek elhelyezésére szolgáló szükségmegoldás ökoszisztéma szolgáltatást is kínálhat, azonban ezek sós vizű tavak, melyek párolgás útján töményedhetnek is.



2.2 ábra – A szentesi Termáltó kisebb medencéje
A felvételt Maczelka-Rónyai Juli készítette 2012 szeptember 9-én (forrás: Google Panoramio).

A tározótavas eljárás egyik másik környezetvédelmi problémát is fölvet, mégpedig a csurgalékvíz talajba diffundálását, a talajvíz felső rétegeibe való bejutását. Ez szikesedést, a talaj lúgosodását okozhatja, de emellett szerves szennyezőkkel is terhelheti a talajvíz-rendszert. Ezt ki

lehetne ugyan küszöbölni a csatornák és a tározótavak szigetelésével, de ezáltal a befogadó víztest szenvedne nagyobb környezeti terhelést (Balog és Farsang 2011).

A tározásos technika kiegészítéseként vagy helyettesítéseként is működhet az elhasznált termálvizek ioncserélése, valamint ózonos kezelése; az utóbbival a fenol és a humusz alkotórészek degradálhatóak (László és Hodúr 2007). A fenoloidok és az ammónia megkötése lehetséges egy adszorbenssel is (pl.: aktívszén-szűrő) (Simonič és Ozim 1998). Az ezt követező lépésben a karbonátsókat távolítják el egy ioncserélő gyantával töltött ioncserélő oszlop segítségével (Pohl 2006; Tokmachev, Tikhonov és Khamizov 2008). Az így kapott víz problémamentesen engedhető felszíni élővizekbe, valamint felhasználható hűtővízként vagy öntözésre is. Ez az eljárás azonban magas költségvonzata mellett más problémákat okozhat; a keletkező hulladék biztonságos lerakása és elégetése potenciális környezeti kockázatokkal járhat, amihez az is hozzájárul, hogy az ioncserélő gyanta regenerálása sósavval történik, melyet kálium-hidroxiddal semlegesítenek – ezeknek a használt oldatoknak a megfelelő elhelyezése sem problémamentes (Csiszár 2013). A sótartalom eltávolítása történhet még hígítással, kicsapatással, vagy vákuum-bepárlással is (Balog és Farsang 2011; Takács és Nagy 2009), bár ezek a módszerek igen drágák lehetnek és a keletkező hulladék elhelyezése szintén környezeti problémát jelenthet.

Az energiatermelésre felhasznált geotermális vizek csak akkor bizonyulnak megújuló energiaforrásnak, ha a fűtésre vagy a geotermális erőművekben használt vizet legalább részben visszasajtolják a kőzetrétegbe, ahonnan származik, gondoskodva ezáltal a hévízkészletek utánpótlásáról (Cappetti és mtsai 1995). Ennek feltétele, hogy a víz kémiai paraméterei ne változzanak jelentősen a felhasználás során, valamint fontos a visszasajtoláskor használt nyomás is. Alacsony nyomás mellett fenntarthatóbb a geotermális energia felhasználása, mivel a magas túlnyomás roncsolhatja az alapkőzetet, melyből a rétegvíz származik. A Magyarországon használatban lévő termálkutak közül sajnálatos módon csak 20 kút működik visszasajtolós technológiával, mely mára a nem balneológiai vagy fogyasztási célokra felhasznált termálvizek hasznosításának alapfeltétele lett, a törvényi szabályozás szerint új kutak létesítése már nem is lehetséges enélkül (Szanyi és Kovács 2010). A szabályozás, bár gátat szab a geotermális energia egyszerű és olcsó felhasználásának, megteremti a feltételeit egy fenntartható és hosszú távú hőenergia-szolgáltatás létrehozásának.

Hazánk geotermális adottságait még csak részben használja ki; jelenleg számos termálkút üzemben kívül van, mivel a visszasajtoláshoz szükséges technológia kiépítésére hiányzik az anyagi keret, de nem az utóbbi jelenti az egyetlen korlátot. A pannon-emeleti porózus víztartó kőzet, melyből a geotermikus rétegvizeink származnak, nem mindig reagál jól a visszasajtolásra; hasonló

kőzetrétegekkel kapcsolatban volt negatív tapasztalata több nyugat-európai országnak, valamint Kínának is (Seibt és Kellner 2003; Su és mtsai 2018; Ungemach 2003).

2.3 A szarvasi Barex Kft. által üzemeltetett termelőkutak vizének kémiai és mikrobiológiai tulajdonságai

Az 1960-as években a Szentestől 35 kilométerre északkeletre fekvő Szarvas város térségében is végeztek próbafúrásokat, melyek során termálvizet találtak. A szarvasi Barex Kft. három hévízkút (K-61/SzR3, K-80/SZR16, K-81/SZR18) geotermikus energiáját hasznosítja gazdasági létesítmények fűtésére. A kutakból kitermelt 95–96 °C hőmérsékletű hévizet először egy hőközpontba vezetik, majd onnan osztják szét a felhasználók között. A vízjogi üzemeltetési engedélyben foglaltak szerint az évente kitermelhető termálvíz mennyisége 450 000 m³, de mivel az utóbbi években a fűtési igény jelentősen lecsökkent, a ténylegesen kitermelt geotermális víz mennyisége 240 000 és 305 000 m³ között változott (Pekár 2013).

A dél-magyarországi termálvizek nagy része nátriumkarbonátos, sós víz, mely földgázzal együtt nyerhető ki (Bálint és Szanyi 2015). A termálvíz a kinyerési ponton átesik egy gáztalanítási lépésen, ebben a kinyert gázt a mennyiségétől függően kezelik: amennyiben kevés kísérőgáz vonható ki a rétegvízből, azt elégetik, amennyiben több, energetikai célokra hasznosíthatják. Ez a szarvasi, Barex Kft. által üzemeltetett termálkutak vizére is igaz. A termelőkutak mellett gázkivezető található, ahol a kinyert vizet elhagyó gázok közvetlenül elégetésre kerülnek (Szirányi 2012).

A szarvasi termelőkutak geotermális vizének sótartalmát szinte kizárólag nátrium-hidrogénkarbonát alkotja. A HCO₃⁻ ion koncentrációja 2866±89,9 mg l⁻¹, a termálvizek vezetőképessége 20°C-on 4006±251,1 μS cm⁻¹ volt. (A közölt értékek három vizsgált termálkút értékeinek átlagai, a mérés 2012 márciusában és 2013 szeptemberében történt.) A természetes felszíni álló- és folyóvizekét több nagyságrenddel meghaladó oldott szervesanyag-tartalmat a KOI_k és a BOI₅ magas értéke mutatja; az előbbi koncentrációja 882 mg l⁻¹, az utóbbié 537 mg l⁻¹ volt. A kutak teljes fenoltartalmának átlaga 9,66 mg l⁻¹-nek bizonyult, azonban előfordultak a kitermelt geotermális vizekben poliaromás szénhidrogének (4,85 mg l⁻¹) és benzol is (27,6 mg l⁻¹) (Németh és mtsai 2014; Pekár 2013).

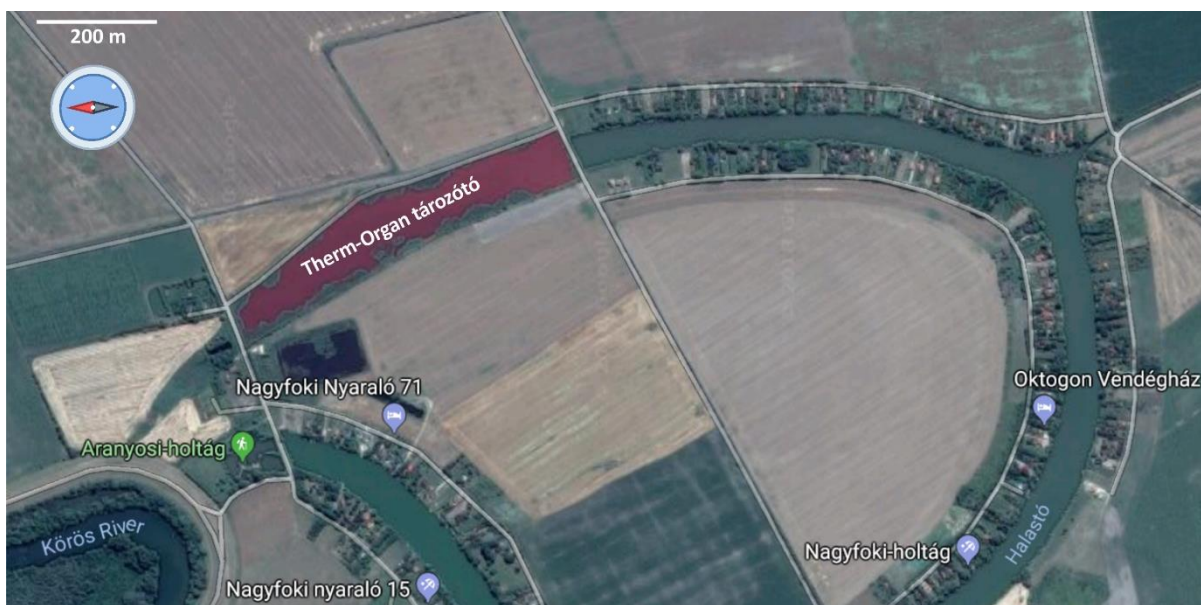
Korábbi kutatásaink során 16S rRNS gén alapú klóntárakkal tanulmányoztuk a termelőkutak vizének mikrobiális közösségeit. Ezek alapján a baktériumok közül leggyakoribbnak a Firmicutes, a Proteobacteria (Alpha és Beta osztályok), a Nitrospirae, a Thermodesulfobacteria, a Chlorobi, az OP1 és az OPB7 törzsek képviselői bizonyultak, míg az Euryarcheota és a Crenarcheota törzsek tagjai

az ősbaktériumok közül. A kútvízmintákban a nitrát- ($<0,443 \text{ mg l}^{-1}$) és a nitrit ionok ($<0,066 \text{ mg l}^{-1}$) koncentrációja rendkívül alacsony volt (az értékek megegyeztek az összes vizsgált kútban). Erre magyarázatul szolgálhat, hogy nagy gyakorisággal mutattunk ki a *Thermanaeromonas* és a *Thauera* nemzetség képviselőit, melyek nitrit- és nitrát redukcióban, valamint denitrifikációban játszhatnak szerepet, ezzel az oxidált nitrogénionokat távolíthatják el a rendszerből. A *Desulfotomaculum* és a *Thermodesulfobacterium* genuszok tagjait szintén azonosítottuk a termelőkutak vizéből, melyek a szulfátredukcióban tölthetnek be szerepet, miközben a *Rhodovulum* is részt vehetnek a kénvegyületek átalakításában. (A szulfátion koncentrációja $54,5$ és $62,7 \text{ mg l}^{-1}$ között változott.) A *Pelotomaculum* nemzetség tagjai propionátot oxidálnak, míg a *Methylocystisek* metilotrófiát folytatnak. Utóbbiak a metanogén ősbaktériumok tevékenységéből profitálhatnak, melyek jelenlétét az összes vizsgált kútban kimutattuk; jelentős arányban voltak jelen a *Methanosaeta*, a *Methanothermobacter* és a *Methanocalculus* genuszok képviselői is (Németh és mtsai 2014).

2.4 A szarvasi Therm-Organ-tó mikrobiológiai vizsgálatának eredményei

A használt termálvizek ideiglenes tározására szolgáló tavak mikrobiális közösség szerkezetének megismerésére eddig nem sok kutatás irányult. Korábban egy másik – Szarvas város környékén elhelyezkedő – hűtő-tározó tavat vizsgáltunk, mely a helyi hévízkutak elhasznált geotermális vizét gyűjti össze. Ezt a tavat a Hármaskörös Nagyfoki holtágának egy leválasztott szakaszán hozták létre, vizsgálataink ideje alatt a Therm-Organ Kft. üzemeltette, innen a Therm-Organ tározótó nevet kapta (2.3-as ábra). A tározótóba érkező használt termál csurgalékvíz átlátszó, $50-55 \text{ °C}$ -os, fenol-szagú. A tóvíz hőmérséklete évi ingadozásokat mutat, de sosem csökken fagypontra alá, mivel termálvíz táplálja. Szaga szintén fenolos, színe a tavaszi felmelegedéssel párhuzamosan egyre erőteljesebb bíborba vált, mely a nyár legmelegebb hónapjaiban tetőzik (Borsodi és mtsai 2011, 2012, 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

Ezt a környezetet, Bacteria doménbe tartozó szervezeteinek megoszlását, azok filogenetikai diverzitását több különböző módszerrel is tanulmányoztuk, és vizsgálataink kiterjedtek a tavat tápláló befolyó csurgalékvízre, valamint a tó vizére és üledékére, az utóbbiakból több helyről is mintát vételezve.



2.3 ábra – A szarvasi Therm-Organ tározótó és környezete, a Nagyfoki-holtág
(Forrás: maps.google.com)

A mikrobióta tér- és időbeli változásait denaturáló gradiens gél elektroforézis (DGGE) módszerrel követtük nyomon, mely szerint a vízminták mintavételi hely szerint alig különböztek egymástól, ami a planktonikus mikroorganizmusok egyenletes megoszlására utalt a víztestben, míg mintavételi időpontok szerint jelentős különbségeket észleltünk. Az üledékminták baktériumközösségeiben sem mintavételi hely, sem pedig időpont szerinti csoportosulás nem volt jellemző, valamint a befolyó csurgalékvíz mikrobiális ujjlenyomata élesen különbözött mind a tóvíz- mind az üledékmintáktól. A DGGE-csíkok bázissorrend elemzésével tavasszal a tóvízből *Rhodobacter*, a befolyóvízből *Desulfovirga* és *Hydrogenobacter*, az üledékből a *Dehalogenimonas* nemzetségek képviselőit mutattuk ki. A nyári és őszi tóvíz mintákban a *Halospirulina* és *Arthrospira*, az üledékben a *Dehalococcoides* nemzetségek képviselőinek jelenlétét igazoltuk (Borsodi és mtsai 2011, 2012, 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

Klontárak létrehozásával a bakteriális közösségeket részletesebben is megismerhettük és összehasonlíthattuk egymással. A tóvizet tápláló befolyó csurgalékvíz mintában 5 filogenetikai törzs jelenlétét igazoltuk. Ezek közül a leggyakoribbnak a *Deinococcus-Thermus* phylum bizonyult, de nagy arányban képviseltették magukat a *Firmicutes* törzs képviselői is. A *Deinococcus-Thermus* törzs egyedüli képviselője a *Thermus thermophilus* anaerob kemoorganotróf, extrém termofil baktérium, mely a befolyóvízmintából készült klontárban 0,67-es relatív abundanciával dominálta a környezetet (Borsodi és mtsai 2011, 2012, 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

A tóvíz mintából 11 filogenetikai törzs jelenlétét mutattuk ki; itt a leggyakoribb csoportoknak a *Tenericutes*, a *Bacteroidetes* és a *Cyanobacteria* phylumok, valamint a

Betaproteobacteria osztály képviselői bizonyultak. A legtöbb azonosított közösségalkotó nem mutatott nagyfokú szekvencia hasonlóságot már leírt fajokkal, azonban a cianobaktériumok esetében lehetőségünk nyílt azonosításra: itt az összes szekvencia az *Arthrospira* nemzetség fonalas cianobaktériumaival mutatott nagy hasonlóságot. Bár molekuláris vizsgálatokkal nem sikerült kimutatnunk, de mikroszkópos vizsgálatok alkalmával többször észleltük a *Gloeocapsa* (*Gloeotheca*) nemzetség tagjaival morfológiai azonosságot mutató szervezetek jelenlétét. Ezek a szervezetek nyálkaburokba ágyazódott nyolctagú sejccsoportot alkotnak és hozzájárulhattak a tóvíz bíbor vízvirágzásához, mivel fénymikroszkóppal vizsgálva is jellegzetes rózsás színezetűek voltak (Borsodi és mtsai 2011, 2012, 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

A Therm-Organ tó üledékéből 7 filogenetikai törzs képviselőit azonosítottuk, ezek közül a Proteobacteria phylum dominált, melynek nagy részét a Deltaproteobacteria osztályba tartozó szervezetek tették ki, melyek obligát anaerob szulfátredukáló (Desulfobacterales, Desulfovibrionales, Desulfurellales és Desulfuromonadales) és szintróf anyagcserét folytató (Sythrophobacterales) rendek fajaival mutattak 79-94%-os szekvencia hasonlóságot, de kisebb részben a Gammaproteobacteria osztály is képviseltette magát. Emellett jelentősek voltak még a Bacteroidetes, a Firmicutes, a Chlorobi és a Deferribacteres törzsek reprezentánsai is. Az üledékmintából készült klóntárból csupán négy szekvenciát sikerült >95%-os hasonlósággal azonosítanunk, melyek a *Thiolamprobum* bíbor kénbaktérium nemzetséggel mutatták a legmagasabb hasonlóságot (Borsodi és mtsai 2011, 2012, 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

Tenyésztéses vizsgálataink során a legtöbb izolátumot az α - és β -Proteobacteria osztályok fajaként azonosítottuk. A tóba folyó csurgalékvízből a legnagyobb számban tenyésztésbe vont törzsek a *Tepidiphilus margaritifer* fajhoz, a tóvíz-, valamint az üledékmintákból származó törzsek a *Thauera mechernichensis* fajhoz tartoztak (Borsodi és mtsai 2011, 2012, 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

2.5 Alkalikus-szalinikus sekély tavak mikrobiológiája

Bár az ebben az alfejezetben tárgyalt vizes élőhelyek kialakulása és több jellemzője különbözik a dolgozat kutatási tárgyát képező tórendszerétől, a sekélység, a hipertrófia, valamint az alkalikus és szalinikus környezet a Barex-tározótavakra is jellemző, ezért találtuk fontosnak ezen hasonló élőhelyek mikrobaközösségeinek tárgyalását.

Ezekre az élőhelyekre mind jellemzőek az extrémofil szervezetek, melyek adaptálódtak a speciális környezetekhez; ebben az esetben a mikroorganizmusoknak a magas sókoncentrációt, illetve pH-t kell tolerálniuk.

Alkalofilnek nevezzük azokat a szervezeteket, melyek pH 9 mellett és afölött fordulnak elő, több esetben pH 10-11-es optimummal, míg az alkalitoleráns szervezetek bár növekedést mutatnak pH 9-en is, optimumuk a semleges pH. A csoporton belül találhatóak szervezetek, melyek képesek a környezetük pH-ját is megváltoztatni, savasabb kémhatásúról számukra optimálisra. Az alkalofil szervezetek egy csoportját a haloalkalofil mikrobák alkotják, melyek minimum 9-es pH és magas sótartalom (maximum 33 m/V% NaCl) mellett mutatnak növekedést (Horikoshi 2001).

Azokat szervezeteket, melyek képesek a só jelenlétében és hiányában is növekedni, halotoleránsoknak nevezzük. Ezek közül extrém halotoleránsnak azok az organizmusok bizonyulnak, melyek 15% w/V NaCl (2,5 M) koncentráció mellett is növekedést mutatnak. Azokat a mikrobákat azonban, melyeknek szüksége van sóra a növekedéshez, a halofil szervezetek közé soroljuk. Gyengén halofil a legtöbb tengeri mikroorganizmus (3% w/V NaCl koncentráció), a közepesen halofil szervezetek 3%–15% w/V sókoncentráció mellett mutatnak növekedést, míg az extrém halofilek esetében az optimális növekedés 25% w/V NaCl koncentráció mellett elérhető (Margesin és Schinner 2001).

A Nagy-hasadékvölgy (Kelet-afrikai árokrendszer) északkeleti részén, mely Etiópia, Kenya és Tanzánia területén húzódik (az angolszász szakirodalomban a Gregory Rift elnevezést viseli), számos tektonikus eredetű tó található, melyek nagy része rendkívül sekély szódátó. Mivel az általunk vizsgált környezethez ezek a sekély, alkalikus-szalinikus vízű, gyakran hévforrások által táplált tavak hasonlítanak jellegükben leginkább, itt ezeknek a hasonló élőhelyeknek a mikrobiális diverzitását is ismertetjük. Az Etiópiában elhelyezkedő Abijata-tavat számos hévforrás táplálja, melyek a meder északkeleti részében helyezkednek el. A tó vize rendkívül sós; főleg karbonátokban és bikarbonátokban gazdag.

A kenyai sekély Bogoria és Magadi tavakat és a Sugata-völgyben fekvő Logipi-tavat is hévforrások táplálják. Az alkalikus-szalinikus Bogoria-tavat a hévforrásokon kívül a partvonalán elhelyezkedő gejzírek és fumarolák is tarkítják. Kenyában ezen kívül két szódátó található; a nagyon sekély Elmenteita-tavat a Kekopey hévforrások vize táplálja, a Nakuru-tóba (2.4 ábra) pedig egy közeli város kezelt szennyvize ömlik, annak ellenére, hogy a tó környékét 1968-ban nemzeti parkká nyilvánították.

Tanzániában csak alkalikus szódatavak találhatók; az Eyasi-, a Magadi-, a Manyara- és a Natron-tavak. Az utóbbit a WWF Kelet-Afrika halófitikus ökorégiójának nevezte. Az alkalikus-szalinikus Manyara-tó időszakosan kiszáradhat, az Eyasi-tó szinte minden száraz periódusban követi a példáját, vékony, fehér sóbevonatot képezve az üledékfelszínen. A Magadi-tavat hévforrások táplálják; sótartalma meghaladhatja a 30 m/V%-os értéket (Matagi 2004; Tudorancea és Taylor 2002).



2.4 ábra – Kis és nagy flamingók a Nakuru-tó nemzeti parkban

Forrás: <http://www.holtz.org/Library/Images/Slideshows/Gallery/Fauna/Birds/Lesser-and-Greater-Flamingos-Lake-Nakuru-National-Park-Kenya-1.jpeg>

Ezek a kelet-afrikai sekély, alkalikus-szalinikus tavak a primer produkció és a biomassza szempontjából kiemelkedőek, mivel állandó magas hőmérsékletnek, és folyamatos napsugárzásnak vannak kitéve, miközben az autotróf anyagcseréhez szükséges széndioxid is korlátlanul rendelkezésre áll (Jones és Grant 1999). Egy korábbi elemzés alapján az *Arthrospira fusiformis* nevű fonalas cianobaktérium valamennyi, fent említett tóban jelen volt, miközben az *Anabaenopsis* nemzetség tagjai a Nakuru-, az Elmenteita-, a Bogoria- és az Abijata-tavakban voltak megtalálhatóak. Az *Arthrospira fusiformis* kékalga ezeknek a tavaknak az egyik legjellemzőbb faja, esetenként vízirágzást okozhat, és egyben fő tápanyagául szolgál az itt élő kis flamingóknak

(*Phoenicoptrus minor*) is (Matagi 2004)(2.4 ábra). Jones és Grant (1999) is alátámasztotta, hogy a Kelet-afrikai árokrendszer tavaiban a primer produkcióban a legfontosabb szerepet a cianobaktériumok töltik be; az oxigéntermelő fototróf *Arthrospira* (*Spirulina*), a *Cyanospira*, a *Chroococcus* és a *Synechococcus* nemzetségek mind jelen voltak; míg az *Ectothiorhodospira* nemzetség tagjai anoxikus fototrófia révén járulhatnak hozzá a primer produkcióhoz. Utóbbiak tipikusan alkalikus-szalinikus környezetekben fordulnak elő, és a fotoszintézisük során számos kénvegyületet oxidálnak, ezáltal a kénkörforgásban is részt vesznek (Jones és Grant 1999). Sorokin és mtsai szintén egy összehasonlító tanulmányban az *Arthrospira* (*Spirulina*), *Anabaenopsis* és a *Cyanospira* nemzetségek képviselőit nevezte meg a Kelet-afrikai árokrendszer tavait leginkább meghatározó cianobaktérium csoportokként. A *Cyanospira* genuszból a *C. rippkae* és a *C. capsulata* fajokat a kenyai Magadi-tóból is azonosították (Sorokin és mtsai 2014).

Mwirichia és mtsai (2011) megfigyelései alapján is szintén a cianobaktériumok alkották a leggyakoribb prokarióta csoportot az Elmenteita-tóból vett mintákban; az általuk azonosított klónszekvenciák közel 10%-a mutatott egyezést a *Cyanobacteria* törzs tagjaival. Közülük a *Synechococcus* (86 szekvencia) bizonyult a leggyakoribbnak. A kéalgák közül képviseltették magukat a *Nostoc*, a *Calothrix*, az *Arthrospira* (*Spirulina*) és a *Leptolyngbya* nemzetségek is.

A szénkörforgásban részt vevő aerob szervezetek közül a Halomonadaceae (Gammaproteobacteria) család tagjaival rokon fajok játszhatnak fontos szerepet, például a Magadi-tóból leírásra került *Halomonas magadii*, mely rendkívül sótoleráns. A *H. kenyensis*t szintén számos kelet-afrikai sekély tóból azonosították. Ezek a szódatavakból származó baktériumok képesek a nitrát nitritté redukálására is, így szerepük lehet a nitrogénkörforgásban is (Jones és Grant 1999). A legtöbb tóból előkerült alkalofil *Bacillus* fajok exoenzimeiknek köszönhetően fontos szerepet játszhatnak biopolimerek lebontásában. A *Bogoriella* nemzetség (Actinomycetales) tagjai halotoleráns, alkalofil, aerob vagy mikroaerofil szervezetek, típus törzsüket a Bogoria-tóból izolálták. Ezen kívül jelen voltak még a tavakban *Streptomyces*, *Dietzia* és *Nesterenkonia* fajok is (Jones és Grant 1999). Az Elmenteita-tóban a széles lebontási spektrumú *Hydrogenophaga* nemzetség 1,02%-os relatív abundanciával képviseltette magát (Mwirichia és mtsai 2011). A kelet-afrikai sekély szódatavak szén körforgásában résztvevő anaerob szervezetek közé tartozik a *Spirochaeta* nemzetség, melyet a Magadi-tóból, továbbá a közép-ázsiai – szintén alkalikus-szalinikus – Khatyn-tóból is kimutattak (Zhilina és mtsai 1996). A Magadi-tóból a nemzetség *S. alkalica* és *S. africana* fajait izolálták. A Clostridium XI. csoport tagjaival rokon szervezetek a közepesen sós tavakból kerültek elő, obligát anaerobok és fermentációt végeznek. A Magadi-tóból izolálták a *Tindallia magadii* és *T. histidinovorans*, valamint a *Natroniella acetigena* fajokat, melyek heterotróf,

fermentáló, haloalkalofil acetogén mikroorganizmusok, gyakran aminosavakat is hasznosítanak (Jones és Grant 1999). Szintén ebből a tóból kerültek elő a haloalkalofil *Natronobacterium* és *Natronococcus* ősbaktériumnemzetségek fajtái, melyek kemoorganotróf, szigorúan anaerob szervezetek és élénkpiros vízvirágzást okozhatnak. A tó kristályos, trona (triszódium-hidrogénkarbonát-dihidrát) aljzatában szintén élnek organotróf ősbaktériumok. Az anoxikus fotoheterotróf (sötétben kemotrófiára képes), bíbor nemkén *Rhodobaca bogoriensis* fajt először a Bogoria-tóból izolálták (Jones és Grant 1999; Sorokin és mtsai 2014).

A szóda tavakból eddig izolált metanogén szervezetek főleg obligát metilotrófok voltak, melyek nem hidrogént és széndioxidot, hanem számos C1-es vegyületet hasznosítanak. Ezekre a környezetekre jellemző nemzetség az *Methanohalophilus* (*Methanosalsus*), a Methanomicrobiales renden belül (Jones és Grant 1999). Sorokin és mtsai (2014) szerint a metán körforgásban ezekben a környezetekben szerepet játszanak további ősbaktériumok is; a *Methanobrevibacterium smithii* (mérsékelt sótartalom mellett), a *Methanosalsum zhilinae* és a litotróf *Methanocaldococcus jannaschii* (magas sótartalom mellett).

A kénkörforgásban részt vesznek a már említett *Ectothiorhodospira* fajok, melyek fotoszintézisükben redukált kénvegyületeket hasznosítanak elektrondonorként. A nemzetség *E. vacuolata* fajtát a Bogoria-, a Nakuru-, az Elmenteita- és a Magadi-tavakból is azonosították (Sorokin és mtsai 2014). Szulfátredukciót a *Desulfonatronum* és a *Desulfonatronospira* nemzetségek tagjai végeznek. Emellett a halolakalitoleráns *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans* (hidrogént hasznosító és szulfátot redukáló) baktériumot a Magadi-tó sókristályos (trona) aljzatából izolálták (Jones és Grant 1999). Mwirichia és mtsai (2011) az Elmenteita-tó vizsgálata során kimutattak a *Thiothrix nivea* (Gammaproteobacteria) szulfidoxidáló baktériummal nagyfokú szekvencia hasonlóságot mutató szervezeteket, ezen kívül a deltaproteobaktériumok közül is azonosítottak szulfátredukálókat, többek között a *Desulfonatronum*, a *Desulfobulbus* és a *Desulfosarcina* nemzetségekből. A Bogoria és Magadi tavakban előfordultak még a *Thiomicrospira* és a *Thioalkalivibrio* nemzetségbe tartozó fajok is. Utóbbiból a Bogoria-tóból izolálták a *T. denitrificans* és a Nakuru-tóból a *T. nitratist*. Ezek a fajok rendkívüli sótoleranciával és metabolikus flexibilitással rendelkeznek. Obligát autotrófok, melyek redukált kénvegyületeket hasznosítanak, de anaerob környezetben képesek elfogadni nitrátot és nitritet is elektronszeptorként, hozzájárulva ezzel a nitrogénkörforgalomhoz is (Jones és Grant 1999). A *Thioalkalimicrobium* nemzetség *T. aerophilum* fajtát nem csak számos kelet-afrikai, de szibériai szikes tavakból is izolálták. Ez az autotróf, kénvegyületeket oxidáló, alkalofil aerob baktérium mérsékelt sótoleranciával rendelkezik (Sorokin és mtsai 2014).

A kelet-afrikai sekély szódatavak nitrogén körforgásában az egyik legjelentősebb szerep a nitrogénfixáló cianobaktériumokhoz (pl.: *Arthrospira*) köthető, de a már szintén említett *Halomonas* fajok a nitrát redukálásában játszanak szerepet. Jelen lehet ebben a környezetben a *Nitrobacter* nemzetség is, mely tagjai nitrifikációt végeznek, valamint szerepet játszanak a nitrogén vegyületek redukálásában a *Thioalkalivibrio denitrificans* és a *T. nitratis* is, melyeket már a kénkörforgalom tárgyalásánál említettünk (Jones és Grant 1999).

Hazánkban is számos sekély szikes tó fordul elő, melyek főként a Felső-Kiskunság és Miklapusztai területén találhatók, köztük több időszakosan kiszáradó. Ezek között tartjuk számon többek között a Böddi-szék, a Zab-szék, a Büdös-szék (a Kiskunsági Nemzeti Park területén) és a Sós-ér időszakosan kiszáradó szikes tavait, melyek eddig feltárt mikrobiális közösségszerkezetét az alábbiakban mutatjuk be.

Általánosságban a Kiskunsági Nemzeti Park területén fekvő szikes tavakra jellemző a sekély vízmélység, az időszakos kiszáradás, a nagy turbiditás (a víz magas huminsav tartalma miatt), az alkalikus pH, a hipertrófia (a vízbe kerülő növényi anyag és vízimadarak ürüléke miatt) és nyáron a nagy napi hőingás; ezek a tényezők együtt teszik ezt az élőhelyet extrém környezetté (Boros és mtsai 2016; 2017; Szabó és mtsai 2015, 2017).

A Böddi-szék rendkívül sekély, felszakadozott szikes tavainak felülete mintegy 1,88 km²-et tesz ki. A víz színe a szikes tavakra jellemző, tipikus szürkés-fehér, a benne uralkodó extrém körülmények miatt számos, különleges mikroorganizmusnak ad otthont (2.5 ábra). Mélysége átlagosan 15-20 cm, azonban kiszáradás előtt fokozatosan egyre sekélyebbé válik. A szikes tó vizére jellemző a Na⁺, HCO₃⁻, CO₃²⁻ és Cl⁻ ionok jelenléte, extrém magas vezetőképesség (15700 μS cm⁻¹) és a szalinitás (12,34 g l⁻¹), valamint a magas oldott oxigén koncentráció 32.7 mg l⁻¹ (458 %) (Borsodi és mtsai 2013).

A tó mikrobiális diverzitását egy 2008 júniusi vízvirágzáskor Borsodi és munkatársai (2013) vizsgálták tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független módszerekkel, közvetlenül a víztest időszakos kiszáradása előtt. Ezt a vízvirágzást a tó rendkívül alkalikus és sós vizében az *Oocystis submarina* nevű zöldalgafaj okozta. Az 5%-os NaCl koncentráció melletti tenyésztési vizsgálatok alkalmával a következő csoportok képviselőit azonosították: a Firmicutes törzsből többek között a *Bacillus* és a *Gracillibacillus* nemzetségek képviselőit mutatták ki a tó vízből. Az előbbi nemzetségbe tartozó törzsek alkalitoleránsnak bizonyultak (pH 7-9) széles sótűrési spektrummal, miközben a *Gracillibacillus* genusz tagjai obligát alkalofilek voltak, melyek csak NaCl jelenlétében növekedtek. A Bacteroidetes nemzetségből az obligát alkalofil, szűk sótűrésű (5-7% NaCl) *Aquiflexum*, valamint a fakultatív alkalofil *Algoriphagus* nemzetségbe tartozó fajokat azonosították.

A Gammaproteobacteria osztályból számos nemzetséget sikerült azonosítaniuk, melyek közül a jelentősebbek az *Alkalimonas*, a *Halomonas*, a *Nitrincola* és a *Marinospirillum* nemzetségek tagjai voltak. Ezek a szervezetek mind fakultatív alkalofilek, többnyire széles sóűrési spektrummal. Az *Alkalimonas delamerensis* faj nagy számban volt jelen a már tárgyalt Elmenteita tóban is, Kenyában, míg a *Marinospirillum alkaliphilum* a belső-mongóliai Hailer-szódatóból is előkerült. Az Alphaproteobacteria osztály, tenyésztéssel kimutatott legjelentősebb képviselői a Böddi széki szódatóban főleg szűk sóűrűsű (5-7% NaCl) fototróf, bíbor nemkén baktériumok voltak. Az *Erythrobacter* nemzetség tagjai fakultatív alkalofilnek, míg a *Rhodobaca* genuszba tartozó fajok alkalitoleránsnak bizonyultak.



2.5 ábra – A Böddi széki sekély, szikes tó egy részlete
Forrás: http://www.boddi.hu/vizes_elohelyek_vilagnapja&v=1

Az élőhely klóntáras vizsgálatainak során az Alphaproteobacteria osztályból anoxikus fototróf mikroorganizmusokat a *Rhodobaca* és a *Rhodobacter* genuszokból mutattak ki, míg a gammaproteobaktériumok közül az *Ectothiorhodospira* nemzetségbe tartoznak hasonló szervezetek. A Firmicutes törzsből a *Heliorestis* nemzetségbe tartoztak anoxikus fototrófiát végző baktériumok, míg az *Anoxynatronum* genusz alkalofil és anaerob tagjai szacharolitikus tevékenységeket folytathatnak, az *Anoxynatronum sibiricum* (alkalofil, obligát anaerob, szacharolitikus szervezet jelenlétét a szibériai Belo Nizhnee szódatóból is igazolták. Obligát

anaerob alkalofil fajokat mutattak ki a *Spirochaetes* törzsből is; az összes molekuláris klón 12%-a a *Spirochaeta* genuszba tartozott. A *Spirochaeta alkalica* és *Spirochaeta asiatica* előkerültek a már tárgyalt Magadi tó és az oroszországi Khatyn tó üledékéből is. A Deltaproteobacteria osztályból az alkalofil, anaerob *Desulfonatronum* nemzetség tagjait mutatták ki a tóból. A tioszulfátot és szulfátot redukáló szervezetek közé tartozhatnak a Böddi széki szódatóból szintén kimutatott *Dethiosulfatibacter aminovorans*, *Fusibacter paucivorans*, *Desulfobotulus sapovorans* és a *Desulfonatronum lacustre*.

A Büdös-szék sekély szikes tavának kiterjedése 0,7 km², a Zab-széké 1,82 km², mindkét tóra jellemző a turbiditásból eredő fehér színezet és a lebegő agyagrészecskék jelenléte. A Sós-ér ezzel szemben csak 0,03 km² területű, a vize kevésbé turbid, és oldott huminanyagok jelenléte jellemzi. Mindhárom tó pH-ja 9 és 10, az átlagos szalinitás 3,74 és 10,60 g l⁻¹ között változik; a domináns ionok a Na⁺ és a HCO₃⁻. Az átlagos vízmélység 30-40 cm, de nyáron a tavak teljesen kiszáradhatnak (Boros és mtsai 2014; Szabó és mtsai 2015, 2017).

Szabó és munkatársai 2012 novemberében végezték ezen tavak bakteriális közösség szerkezetének feltárását 16S rRNS gén alapú piroszekvenálással, univerzális bakteriális primerek használatával, míg a vízminták fitoplankton összetételét epifluoreszcens mikroszkópiával vizsgálták (Szabó és mtsai 2017). Mindhárom sekély tóban a pikoeukarióták voltak dominánsak, és pikocianobaktériumokat csak a Zab-szék vizéből mutattak ki. Ez a szerzők szerint azzal magyarázható, hogy a planktonikus, pikoeukarióta algák kompetitív előnyöket élveznek alacsony hőmérséklet és fényintenzitás mellett (az előbbi a november végi mintavétel, az utóbbit a vizek turbiditása okozta) (Somogyi és mtsai 2009; Vörös, Mózes, és Somogyi 2009; Weisse 1993; Pálffy és mtsai 2014).

A szikes tavakra általánosan jellemző módon a Proteobacteria (részarány: 61-30%) és a Bacteroidetes törzs (53-22%) tagjai domináltak, bár a Büdös-szék esetében az Actinobacteria törzs tagjai is jelentősebb számban (25%) képviseltették magukat. A Bacterioidetes törzsön belül a leggyakoribb osztályok a Cytophagia és a Flavobacteria voltak, míg a Proteobacteria törzsön belül az Alphaproteobacteria osztály. Az Alphaproteobacteria osztály, Rhodobacterales rendjén belül a *Roseococcus*, a *Rhodobaca* és a *Salinarimonas* nemzetségek fotoheterotróf növekedéssel hozhatók összefüggésbe. Általánosságban véve az azonosított genuszok nagy része aerob, heterotróf szervezeteket foglalt magába, de a szerzők sok halofil és halotoleráns szervezet jelenlétét is igazolták (*Altererythrobacter*, *Loktanella*, *Seohaecicola*, *Pseudospirillum*, *Salinarimonas*, *Aliidiomarina*, *Idiomarina*, *Flavobacterium* és *Indibacter*). A kimutatott *Mongoliicoccus* és a *Nitriliruptor* fajok alkalofilek is, mely összecseng az élőhelyek 9,1-9,7-es pH-jával a mintavétel idején

(Szabó és mtsai 2015, 2017). A primer produkcióban részt vevő szervezetekkel kapcsolatban már említés esett pikoeukarióta algákról; ezek közül ebben a környezetben a *Chloroparva* és a *Choricystis* voltak dominánsak egy korábbi tanulmány alapján (Felföldi és mtsai 2009), míg a cianobaktériumok közül a *Synechococcus* nemzetség tagjai bizonyultak jelentősebbnek, más szikes tavakkal ellentétben, ahol főleg a *Spirulina* és *Arthrospira* nemzetségek tagjai játszották a primer produkcióban a legfontosabb szerepet (Szabó és mtsai 2015, 2017).

A mindhárom élőhelyen jelen lévő 1% fölötti relatív abundanciával rendelkező taxonok közé tartoztak a Flavobacteriaceae, a Rhodobacteraceae, a Comamonadaceae, a Rhizobiales, a Microbacteriaceae és a Verrucomicrobiaceae, a genuszok közül a *Loktanella*, *Luteolibacter*, *Indibacter*, *Salinarimonas* és *Methylothermobacter* voltak jelen.

Összességében véve a cianobaktériumok jelenléte sokkal kevésbé volt jellemző ezekre a tavakra, mint a kelet-afrikai szódatavakra. Ennek oka az az *Oocystis submarina* zöldalga vízvirágzása lehetett, mely lecsökkenthette a cianobaktériumok életterét.

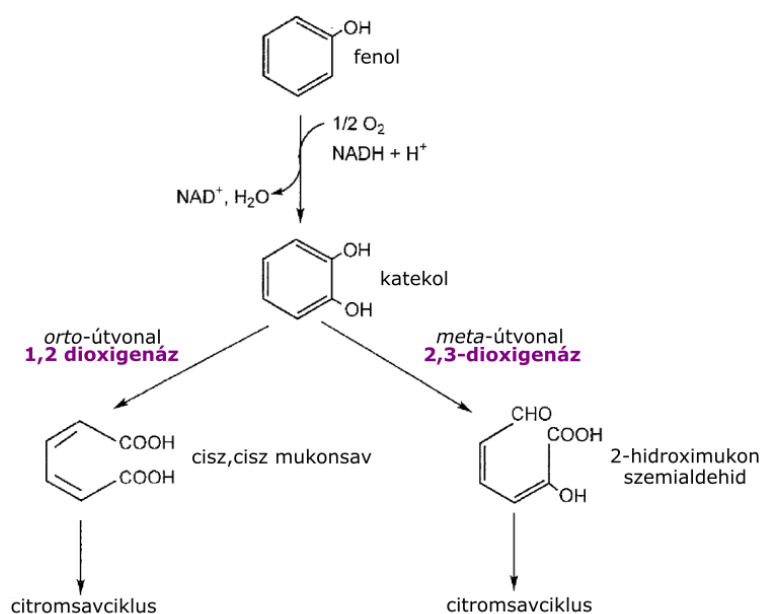
2.6 Fenolvegyületek biodegradációja alkalikus-szalinikus környezetekben

Az általunk vizsgált környezetben jelen voltak fenol- és kisebb mértékben egyéb aromás vegyületek is, melyek szintén szerepet játszhatnak a mikrobiális közösségszerkezet alakításában. Ebben a fejezetben ezért kitérünk a fenolt és származékait alkalikus és szalinikus körülmények között bontani képes szervezetek tárgyalására.

Fenolvegyületek lebontása minden természetes élőhelyen zajlik, ahol elfásodott növényi részek bomlása is végbemegy. Azonban ezeknek a vegyületeknek a nagyobb koncentrációja, mely főleg ipari környezetekben fordulhat elő, földgáz és kőolaj kinyerési területein, ipari festékek gyártásánál, textilfestő üzemek szennyvizében és étkezési olajok gyártásakor és feldolgozásakor antimikrobiális hatású lehet (Markou, Chatzipavlidis, és Georgakakis 2012).

A fenolok és származékaik közös ismertetőjegye a hat szénatomot tartalmazó aromás gyűrűhöz kapcsolódó hidroxil-csoport. A fenol lebontásának első lépését aerob körülmények között a fenol-hidroxiláz enzim végzi, mely molekuláris oxigént felhasználva egy második hidroxilcsoportot kapcsol az aromás gyűrűhöz, orto-pozícióba, ezzel katekolt létrehozva. A gyűrű felbontása elengedhetetlen lépés az aromás szénhidrogének degradációjában. A keletkezett katekol lebontása két irányt vehet, a lebontó szervezettől függően: az orto-útvonalat követve az 1,2 katekol-dioxigenáz enzim a két hidroxilcsoport között hasítja el a gyűrűt (intradiol hasítás), ezzel cisz, cisz mukonsavat létrehozva, míg a meta-útvonalon 2,3 katekol-dioxigenáz a második hidroxilcsoportot

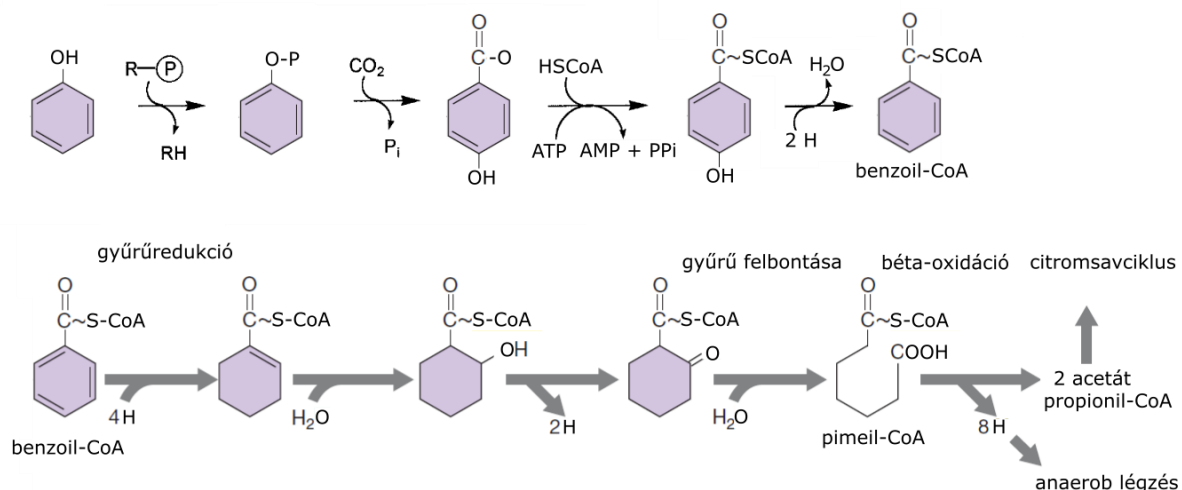
kötő szénatom és az aromás gyűrű következő szénatomja között hasítja el a gyűrűt (extradiol hasítás), 2-hidroximukon-szemialdehydet létrehozva (2.6 ábra). Mindkét lebontási útvonal terméke további átalakításokon megy keresztül, míg a citromsav-ciklus egyik intermedier vegyületeként bekerülnek abba (Atlas és Philp 2005; van Schie és Young 2000).



2.6 ábra – A fenol aerob lebontásának folyamata
Az ábra van Schie és Young cikkéből származik (van Schie és Young 2000)

A fenol lebontása anaerob körülmények között is lezajlik; leírták már fermentáció útján való degradációját metanogén partnerekkel, de nitrátredukáló, szulfátredukáló és vasredukáló szervezetek is képesek elvégezni a lebontását (Bak és Widdel 1986; van Schie és Young 2000; Schink, Philipp, és Müller 2000; Tschuch és Fuchs 1987); ezek az folyamatok nagyon fontosak a fenolszármazékokkal terhelt anaerob szennyvíziszapkezelő reaktorokban is (Knoll és Winter 1987). Legrészletesebben két baktérium fenol lebontásának útvonalát vizsgálták; a *Thauera aromatica* denitrifikáló-, és a *Rhodopseudomonas palustris* bíbor fototróf organizmusokét (Schink, Philipp, és Müller 2000). Itt a degradáció kezdő lépése egy ligázreakció, amelyben (organizmustól függően) vagy 3-, vagy 4-hidroxibenzoil-CoA képződik, CoA-tioészterifikáció által (CoA – koenzim A). Ez a vegyület redukatív dehidroxiláción esik át, így benzoil-CoA képződik és a vegyület belép a benzoil-CoA útvonalnak nevezett gyűrűlebontó folyamatba, melynek során pimelil-CoA képződik. Ez a vegyület belép a béta-oxidációba, majd az ebből fennmaradó acetát és propionil-CoA a citromsav-ciklusba jut.

A folyamat során termelődő hidrogén anaerob légzés során kerül felhasználásra (2.7 ábra) (Foght 2008; Madigan és mtsai 2015; van Schie és Young 2000; Schink, Philipp, és Müller 2000).



2.7 ábra – A fenol lebontásának egyik gyakori útvonala anoxikus körülmények között
Az ábra alapjául van Schie és Young idézett cikke, valamint Madigan és mtsai által szerkesztett könyv szolgáltak
(van Schie és Young 2000; Madigan és mtsai 2015)

A továbbiakban olyan eseteket tárgyalunk, ahol a fenolszármazékok mikrobiális lebontása alkalikus vagy szalinikus környezetekben zajlik, mely hasonlóak az általunk vizsgált tőrendszerhez. Azok a szénhidrogénbontó mikroorganizmusok, melyek adaptálódtak az alkalikus pH-hoz, és a magas sókoncentrációhoz, nélkülözhetetlen szerepet töltenek be a szénhidrogénnel szennyezett extrém környezetek (olajszennyezett szikes tavak és sós mocsarak, valamint ipari szennyvizek) biológiai kármentesítésében (Margesin és Schinner 2001).

Egy tanulmányban különböző *Pseudomonas* törzsek pH 7,5–10,6 között, 24 óra alatt teljesen lebontották egy festéküzem szennyvizének 244 mg l⁻¹ koncentrációjú fenoltartalmát (Sarnaik és Kanekar 1995). Egy másik tanulmány szerint az indiai, alkalikus és szalinikus (pH 10,5) Lonar-tóból származó 14 izolátum pH 10 értéken és 500 mg l⁻¹ fenolkoncentráció mellett volt képes lebontani a minta fenoltartalmának egy részét. Ezek közé az izolátumok közé *Arthrobacter* fajok, *Bacillus cereus*, *Citrobacter freundii*, *Micrococcus agilis* és a *Pseudomonas putida* tartoztak (Kanekar, Sarnaik, és Kelkar 1998). Egy haloalkalofil *Nocardioides* nemzetségbe tartozó törzs, melyet egy, az oregoni Alkali tóhoz közel eső, szennyezett területről izoláltak (pH 9,5-10, 10% szalinitás) különböző klórozott fenolszármazékot volt képes nagy hatékonysággal bontani (Maltseva és Oriel 1997). Egy másik tanulmány (Fahy és mtsai 2008) szerint 14, semleges és alkalikus pH-jú talajvízből izolált baktériumtörzs volt képes BTEX (benzén, toluén, etilbenzén és xilén) degradálására, melyeknek pH optimuma 8 körül mozgott; többek között a *Hydrogenophaga taeniospiralis*, a *Malikia spinosa*, *Pseudomonas* fajok, *Arthrobacter* fajok, és számos *Rhodococcus* faj. Utóbbiak közül a *R. erythropolis* egy mikrokozmosz kísérletben pH 10 mellett is képes volt a benzén degradációjára.

Azok a szervezetek, melyek magas sókoncentráció jelenlétében is képesek szennyezőanyagokat bontani, megspórolhatják a szennyvizek kezelésében a hígítás lépését, ami esetenként igen költségigényes lehet. Érdekesség, hogy minél magasabb a sókoncentráció, annál nehezebben kerülnek oldott fázisba a poliaromás szénhidrogének (Margesin és Schinner 2001).

Halofil organizmusokat alkalmaztak egy biofilm-reaktorban, ahol hipersalinikus, fenollal szennyezett vizek kármentesítését végezték. Az azonosítatlan halofil organizmusokból álló biofilm, mely az Utah állam-beli Nagy-sóstóból származott, a biofilm-reaktor csőrendszerében képzett bevonatot és képes volt eltávolítani a fenolszennyezés 99%-át, 0,1–0,13 g l⁻¹-es átlagos hozam mellett (Woolard és Irvine 1994). A fenol lebontása változó sókoncentráció (5, 10 és 15%) mellett is változatlan hatékonysággal működött; a fenol eltávolításának rátája 113–130 mg m⁻² h⁻¹ volt (Woolard és Irvine 1995).

Egy másik tanulmányban egy mérsékelt sótűrűsű *Halomonas* fajt alkalmaztak egy – a kísérlet céljából létrehozott – sós-fenolos modellszennyvíz kármentesítésében, mely az olajipar szennyvizeire hasonlít. Ez a törzs, egy buborékreaktorban 1-14%-os NaCl koncentráció mellett degradált teljesen 0,1 g l⁻¹ fenolt, 13 óra leforgása alatt (Hinteregger és Streichsbier 1997).

Az *Alcaligenes faecalis* fajt, melyet egy amazonasi esőerdő talajából izoláltak, pH 7-9 között 1,13 g l⁻¹ fenolt volt képes degradálni, 200 óra alatt, 5,6% só jelenlétében (Bastos és mtsai 2000).

Egy 2016-os tanulmány szalinikus (5% NaCl), fenollal szennyezett vizek (200-1200 mg l⁻¹) mikrobiológiai kármentesítését tanulmányozta egy bioreaktorban (Jiang és mtsai 2016). Vizsgálataik szerint a Proteobacteria törzs tagjai (ezen belül a Gammaproteobacteria és az Alphaproteobacteria osztályok képviselői) voltak a legdominánsabbak a reaktorban a lebontás alatt, miközben a fenol nagy része eltávolításra került. A legabundásabb, az általuk vizsgált mintákban a hipersalin környezetekben is előforduló *Marinobacter* nemzetség volt, emellett fontosabb csoportok voltak a *Luteibacter*, a *Thioclava*, az *Aequorivita*, *Halomonas*, a *Rhodobium*, az *Oceanicella* és a *Actinotalea* genuszok.

A haloalkalofil *Halomonas campisalis* a fenolt és a katekolt is hatékonyan képes bontani. Egy 2003-as kísérletben (Alva és Peyton 2003) pH 8–11 értéken és 0–150 g l⁻¹ NaCl koncentráció mellett tanulmányozták az organizmus lebontási képességét. A *H. campisalis* az összes vizsgált körülmény mellett képes volt a fenol és a katekol teljes lebontására, bár a pH növekedésével a kutatók azt tapasztalták, hogy az aromás szénhidrogének lebontásának intermediér terméke, a cisz,cisz-mukonát felhalmozódott. Ez a közttermék csak 0% NaCl koncentrációnál bomlott le teljes mértékben.

3. Célkitűzések

Magyarország hűtő-tározó tavainak mikrobiális diverzitásáról, valamint a tavak vizében és üledékében végbemenő mikrobiológiai folyamatokban résztvevő közösségek összetételéről és változásáról rendkívül kevés ismeret áll rendelkezésünkre. Jelen vizsgálatunk célja ezért az volt, hogy térben és időben is feltérképezzük egy termálvíz átmeneti tározására szolgáló, négy tóból álló rendszer mikrobiális közösségének összetételét. A vizsgálatba vont vizes élőhely alkalikus pH-ja és nagy sótartalma, továbbá a fenolvegységek viszonylag nagy koncentrációja miatt különleges környezetnek is tekinthető, ezért az itt előforduló extremofil szervezetek megismerése is fontos szempont volt számunkra. Egy ilyen rendszer vizsgálata nem lett volna teljes a tározóvíz fizikai és kémiai paramétereinek elemzése nélkül, melyek mikrobiológiai eredményeinket is kontextusba helyezték.

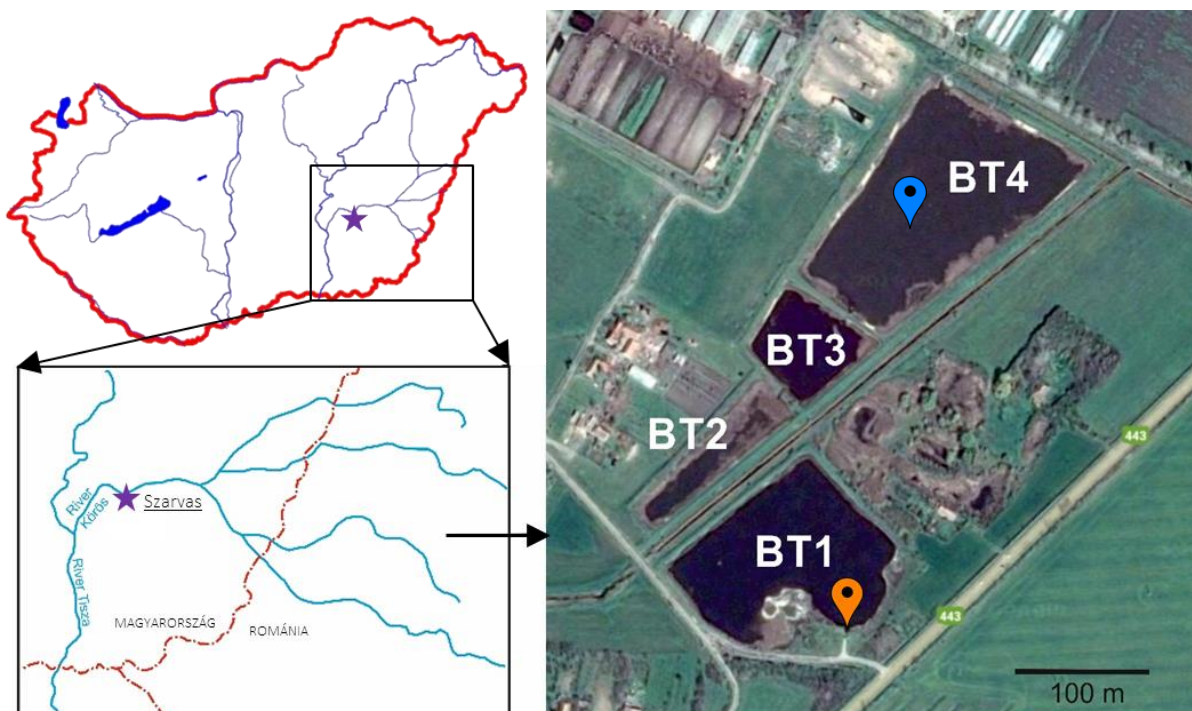
A fentiek figyelembe vételével célul tűztük ki:

- a tározórendszer vizében és üledékében, valamint a vízfelszín alatt képződött biofilmekben a baktériumközösségek összetételében bekövetkező térbeli és időbeli változások nyomonkövetését, az időjárási viszonyok (pl.: belvíz, szárazság) és a szezonális baktériumközösségekre gyakorolt hatásának tanulmányozását;
- a tórendszer tagjai közötti prokarióta közösség szerkezeti különbségek megismerését, különös tekintettel a tározórendszer befolyóvizet fogadó és elfolyás előtti vizet tároló tavára;
- a tórendszerre jellemző extremofil (halofil és alkalofil) mikroorganizmusok kimutatását és az élőhelyi adaptációt figyelembe vevő tenyésztésbe vonását;
- a tározótavak vízminőség változásának hátterében álló prokarióta közösségek összetételének tenyésztéstől független klóntár és nagy felbontású amplitontár módszerekkel történő elemzését annak érdekében, hogy a tórendszerben végbemenő anyagátalakítási folyamatokban résztvevő közösségalkotók minél szélesebb körét azonosíthassuk.

4. Anyag és módszer

4.1 A vizsgálati helyszín bemutatása

Vizsgálataink céljából egy Délkelet-magyarországi, Szarvas városának külterületén fekvő tározótó-rendszer szolgált (4.1 ábra). A tározórendszer mai formájában 1982 és 1985 között épült ki; négy, egymással gravitációs úton összekapcsolt tóból áll, melyek a víz átfolyási sorrendje és az üzemeltető Barex Kft. neve alapján munkánk során a BT1, BT2, BT3 és BT4 neveket kapták (BT = Barex tó). A BT1-es és BT3-as jelzésű tavak eredetileg kubikgödrök voltak, a BT2-es és BT4-es tavakat viszont azzal a céllal hozták létre, hogy a használt termálvíz ideiglenes tározására használják azokat. Mindegyik tavat a part mentén nádasöv veszi körül, a legkisebb felületű BT2-es tónak majdnem teljes a nádborítottsága. A tározórendszer teljes felülete 85 530 m² és a négy tó összesen 177 710 m³ termálvíz befogadására alkalmas. A részletek a 4.1-es táblázatban találhatóak.



4.1 ábra – Szarvas városa a Hármas-Körös partján, és a vizsgált tórendszer a Google Maps légi felvétel képén (A BT1-BT4 jelölések a Barex Kft. által üzemeltetett tavakat jelzik, a narancssárga térképjelölő a használt termálvíz befolyó helyét jelzi, a kék térképjelölő azt mutatja, hogy a tározóvíz honnan hagyja el a rendszert a tómederben lévő csőcsomokon keresztül.)

4.1 táblázat – A használt termálvíz tározására szolgáló tórendszer jellemzői

Tó jelzése	Felülete	Befogadó-képessége	Egyéb jellemzők
BT1	31 100 m ²	72 550 m ³	Ide folyik be a rendszert tápláló, használt kompozit termálvíz
BT2	7 300 m ²	15 000 m ³	Keskeny, hosszú tó, szinte teljes nádborítottsággal
BT3	8 600 m ²	25 000 m ³	A tározórendszer legmélyebb tava, az 5 métert is eléri
BT4	38 900 m ²	65 160 m ³	A tározott vizet innen vezetik egy csatornán keresztül a Hármas-Körösbe

A tavak átlagos mélysége (leengedés előtt) 2-3 m, de a harmadik tó (BT3) elérheti az 5 m-es mélységet is. A tavak egymással földmedrű csatornákon keresztül állnak összeköttetésben; a használt termálvíz az első tónál (BT1) éri el a rendszert és onnan a BT4-en keresztül távozik, miközben a tóvíz átfolyik a BT2 és BT3 tavakon. A befogadó víztest a Hármas-Körös, melyet a víz egy 7,5 km hosszú, földmedrű csatornán áthaladva ér el. A tározórendszerbe kerülő használt termálvíz mennyisége megegyezik a termálkutakból kinyert víz mennyiségével, mely a 2007 és 2012 közötti mérések alapján 240 000 és 305 000 m³ között ingadozott. A tározót ez a vízmennyiség nem egyszerre éri el, hanem folyamatos feltöltések és időszakos leengedések ciklusán keresztül, mindazonáltal a tavakból a befogadó Hármas-Körösbe kerülő víz mennyisége kevesebb, mint a beérkező víz mennyisége, elsősorban a tározás ideje alatti párolgás következtében. A víz átlagos tartózkodási ideje a tározórendszerben a nyári időszakban hat hónap, a téli időszakban minimum két hónap, mely a rendszerbe érkező használt termálvíz mennyiségétől függően változhat. A tározott víz leengedése a befogadó víztestbe október 15 és március 31 között engedélyezett.

A három termálkútból (K-61/SzR3, K-80/SZR16, K-81/SZR18) kinyert termálvizet ipari és mezőgazdasági létesítmények (pl. pulykakeltető üzemek) fűtésére használják. A kutaktól a termálvizet egy gáztalanítási lépés után zárt rendszerben egy hőközpontba vezetik, onnan kerülnek elosztásra a felhasználókhoz, majd lehűlés után az összegyűjtött, használt termálvíz szintén zárt csőrendszeren keresztül éri el a tározórendszert. A termelőkutak vizét mikrobiológiai és vízkémiai szempontból részletesen korábban jellemeztük (Németh és mtsai 2014).

4.2 Mintavételezés

A befolyó csurgalékvíz (IW) 2012-ben októberben és márciusban mintáztuk; mintánként két liter vizmintát gyűjtöttünk steril üvegedényekbe a csőcsonknál, ahol a használt termálvíz befolyik az első tározótóba (É 46,855622, K 20,584487). Az azonos tóból származó tóvíz és üledék mintákat ugyanazon a mintavételi ponton gyűjtöttük (BT1 É 46,856410, K 20,583690; BT2 É 46,856733, K 20,582102; BT3 É 46,858110, K 20,583879; és BT4 É 46,859607, K 20,586251) 2012

márciusában, júliusában és szeptemberében, valamint 2013 áprilisában, júliusában és szeptemberében. A tavakból származó, mintánként 1 liternyi vízmintát (W1-W4) 20 cm-rel a vízfelszín alól, csónakból alámerítéssel vettük steril üvegedényekbe. A megközelítőleg 200 g-nyi üledékmintát Hargrave-mintavevővel gyűjtöttük az üledékfelszín felső 3-5 cm-es rétegéből steril üvegekbe. A 24 órán belül történt laboratóriumi feldolgozásig a mintákat hűtve tároltuk.

A minták begyűjtését a Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ Halászati Kutatóintézetének (NAIK-HAKI) munkatársai végezték (4.2/a ábra).



4.2/a ábra – Mintavételezés a BT4-es tavon



4.2/b ábra – A BT1 tározótó képe a befolyócső felől fényképezve, 2012 júliusában (saját kép)



4.2/c ábra – A BT4-es tó képe, ÉNy-i irányból fényképezve, 2012 júliusában
(A tóba korábban raklapokat helyeztek egy, a biofilm képződés elősegítése céljából végzett kísérlethez.)

A mintatípusokat és mintavételi időpontokat a 4.2-es táblázatban részleteztük.

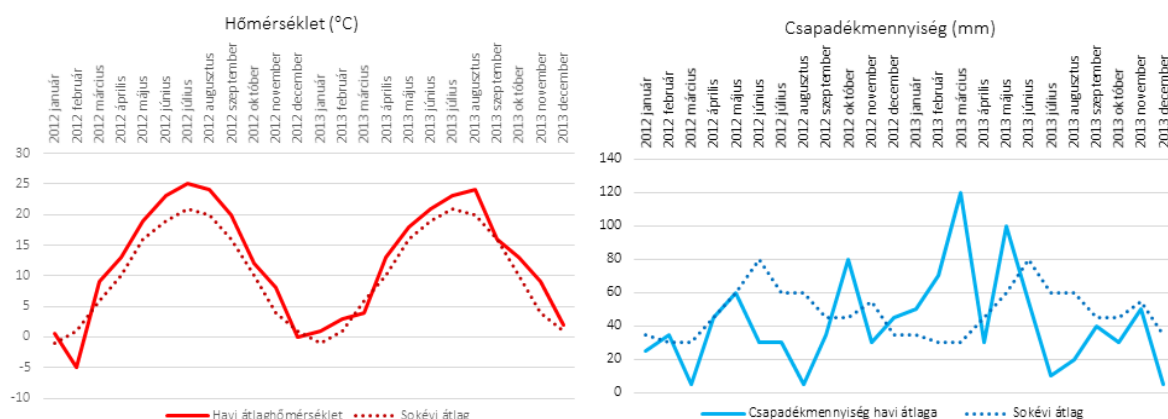
4.2 táblázat – A mintavételi időpontok, helyek és a dolgozatban használt rövidítésük, a mintatípusok és megjelölésük, valamint a velük végzett vizsgálatok összefoglalása

Jelölések: minták ■ klóntárakhoz, ■ tenyésztéshez, ■ piroszekvenáláshoz, ■ mélységi mintavétel, *fekete dőlt* – ezen minták kivételével az összes többi minta szerepelt DGGE vizsgálatokban csillagozott* sejtszám meghatározáshoz, szürke háttérszín – fizikai és kémiai vizsgálatok.

Jelzés	Mintavételi hely	2012.03	2012.07	2012.09	2012.10	2013.04	2013.07	2013.09
IW	Első tavat tápláló használt termálvíz	IW_1203*	-	-	IW_1210*	-	-	-
W1	BT1 tó - tóvíz	W1_1203*	W1_1207*	W1_1209*	W1_1210*	W1_1304	W1_1307	W1_1309
W2	BT2 tó - tóvíz	W2_1203*	W2_1207*	W2_1209*	W2_1210*	W2_1304	W2_1307	W2_1309
W3	BT3 tó - tóvíz	W3_1203*	W3_1207*	W3_1209*	W3_1210*	W3_1304	W3_1307	W3_1309
W4	BT4 tó - tóvíz	W4_1203*	W4_1207*	W4_1209*	W4_1210*	W4_1304	W4_1307	W4_1309
S1	BT1 tó - üledék	S1_1203	S1_1207	S1_1209	-	S1_1304	S1_1307	S1_1309
S2	BT2 tó - üledék	S2_1203	S2_1207	S2_1209	-	S2_1304	S2_1307	S2_1309
S3	BT3 tó - üledék	S3_1203	S3_0712	S3_1209	-	S3_1304	S3_1307	S3_1309
S4	BT4 tó - üledék	S4_1203	S4_0712	S4_1209	-	S4_1304	S4_1307	S4_1309
B1	BT1 tó – biofilm / nád felszín	-	B1_0712	B1_1209	-	-	-	B1_1309
B2/1	BT2 tó – biofilm / nád felszín 1. mintavételi hely	-	B2_0712	B2_1209	-	-	-	B2/1_1309
B2/2	BT2 tó – biofilm / nád felszín 2. mintavételi hely	-	-	-	-	-	-	B2/2_1309
B2/3	BT2 tó – biofilm / nád felszín 3. mintavételi hely	-	-	-	-	-	-	B2/3_1309
B3/1	BT3 tó – biofilm / nád felszín 1. mintavételi hely	-	B3_0712	B3_1209	-	-	-	B3/1_1309
B3/2	BT3 tó – biofilm / nád felszín 2. mintavételi hely	-	-	-	-	-	-	B3/2_1309
B4/R	BT4 tó – biofilm / rőzse felszíne	-	B4/R_0712	-	-	-	-	-
B4/P	BT4 tó – biofilm / raklap felszíne	-	B4/P_0712	B4/T_1209	-	-	-	-
B4/N	BT4 tó – biofilm / nád felszín	-	B4/N_0712	B4_1209	-	-	-	-
B4/1	BT4 tó – biofilm / nád felszín 1. mintavételi hely	-	-	-	-	-	-	B4/1_1309
B4/2	BT4 tó – biofilm / nád felszín 2. mintavételi hely	-	-	-	-	-	-	B4/2_1309

4.3 A vizsgált évekre jellemző időjárási viszonyok

Az időjárási körülményeket azért tárgyaljuk ebben a fejezetben, mivel az itt közölt eredmények nem e kutatásból, hanem az Országos Meteorológiai Szolgálat weboldaláról (Országos Meteorológiai Szolgálat 2013) származnak, és az eredményeink értelmezését segítik. A régió-specifikus időjárási adatokat mindkét tanulmányozott évből a hónapok átlaga szerint gyűjtöttük ki. Az adatok alapján szerkesztett hőmérsékleti és csapadékmennyiségi grafikonokon (4.3 ábrák) jól látható, hogy a havi átlaghőmérséklet értékek mindkét évben meghaladták a sokéves átlagot, ugyanakkor a két év között jelentős különbségek is megfigyelhetők (4.3/a ábra): 2012-ben a tél hidegebb volt, de márciusra száraz és meleg idő köszöntött be, míg 2013-ban ugyanebben a hónapban 5°C-kal alacsonyabb volt az átlaghőmérséklet és a csapadék mennyisége meghaladta az összes többi hónap csapadékátlagát a vizsgált két éves intervallumban (4.3/b ábra).



4.3/a és b ábra – Havi átlaghőmérséklet és csapadék értékek Szarvas közelében a vizsgálat két éves időtartam alatt és a régióban mért sokévi átlag (1981-2010) értékek (Az adatok az Országos Meteorológiai Szolgálat weboldaláról származnak.)

A csapadékkilengés által okozott 2013 tél végi belvizek a tározó túltelítődéséhez és átmosódásához vezettek, így a teljes rendszert leengedték, emiatt került a 2013 márciusára tervezett mintavételi időpont ugyanazon év áprilisára. 2013-ban a késő tavasz és a nyár hőmérsékleti átlaga pár fokkal alacsonyabb volt az előző événél és az őszi lehűlés is előbb jelentkezett.

4.4 Vízminőségi vizsgálatok

A minták fizikai és kémiai paramétereinek mérését a NAIK-HAKI munkatársai végezték.

Hordozható mérőeszközzel (WTW MultiLine P4 Universal Meter, Xylem Analytics, Weilheim, Németország), a helyszínen mérték a vízminták hőmérsékletét, vezetőképességét, pH-ját és oldott oxigén tartalmát. A vízminták kémiai oxigénigényét Macherey-Nagel Nanocolor COD 1500 (Düren, Németország) fotometriás módszerrel vizsgálták, a biológiai oxigénigény mérése WTW OxiTop rendszer (Xylem Analytics, Weilheim, Németország) használatával történt. A szervesetlen nitrogén, az oldható reaktív foszfor mennyiségét és a teljes fenol koncentrációt a Lachat QuikChem 8500 Flow Injection Analysis System (Lachat Instruments, Loveland, USA) segítségével mérték. A szerves nitrogén és foszfor koncentráció meghatározása kolorimetriás mérés útján, GANIMEDE Automatic Laboratory Analyser használatával történt (Hach, Manchester, UK). A policiklusos aromás szénhidrogéneket GC/MS segítségével analizálták. Az üledékminták redoxpotenciálját (mV) Cole-Parmer Model # 59002-10 pH/mV/°C Meterrel határozták meg (Cole-Parmer, Vernon Hills, USA).

A vízminőség fő komponenseinek meghatározásához magyar szabványokat (MSZ) alkalmaztak: pH (MSZ 1484-22:2009), oldott oxigén (MSZ EN 25814:1998), redoxpotenciál (MSZ ISO 5667-10:1998), vezetőképesség (MSZ EN 27888:1998), kémiai oxigénigény (MSZ ISO 6060:1991), biológiai oxigénigény (MSZ EN 21420-9:2004), ammónium nitrogén (MSZ EN ISO 11732:2005), teljes nitrogén (MSZ EN ISO 11905-1:1998), összes szerves nitrogén (MSZ 12750-20:1972), összes szervesetlen nitrogén (MSZ 12750-20:1972), összes oldott anyag (MSZ 260-3:1973), ortofoszfát (MSZ EN ISO 15681-1:2005), összes foszfor (MSZ EN 1189:1998), és összes fenol (MSZ EN ISO 14402:2000).

A biológiai oxigénigény (BOI_5) egy olyan mérőszám, mely azt hivatott kifejezni, hogy a vízben lévő mikroorganizmusok, sötétben, 5 nap alatt, 20°C-on mennyi oxigént használnak fel a minta szerves anyag tartalmának lebontásához. A minta oxigéntartalma mintavételkor, majd 5 nap elteltével kerül le mérésre, és a két mérés között elfogyott oxigén a BOI_5 eredménye. A KOI_k , vagyis a kromátos kémiai oxigénigény értéke az egységnyi térfogatú vízmintában lévő szerves anyag kálium-bikromáttal, savas közegben, ezüst-szulfát katalizátor jelenlétében végzett roncsolásának mérésén alapul. A keletkezett ionok vas(II)-ammónium szulfát mérőoldattal kerülnek visszatitrálásra, ferro-ion indikátor jelenlétében, melyből megkapható a KOI_k értéke.

Az értekezésben a vízminőséget a felszíni vizek vízminőségére vonatkozó magyar szabvány alapján értékeltük (MSZ 12749: 1993) (Függelék 1-2 táblázat).

4.5 Epifluoreszcens mikroszkópos sejtszám meghatározás

Mikroszkópos sejtszám meghatározást 2012-ben négy mintavétel alkalmával, márciusban, júliusban, szeptemberben és októberben végeztünk. A vízminták fixálásához 8%-os, steril paraformaldehid oldatot készítettünk. A mintákból legkésőbb a mintavételezést követő napon az előre meghatározott mennyiséget (1 ml – tóvíz minták, 5 ml – befolyóvíz minták) 3:1 arányban kevertünk a fixáló-oldathoz. A tóvízből vett mintákat steril vízzel hígítottuk. A mintákat 12 óra inkubáció után $\varnothing = 0,2 \mu\text{m}$ membránszűrőn (Isopore Membrane Filters, Millipore, USA) leszűrtük, majd a szűrőpapír közepéből egy kb. 1 cm oldalú háromszöget vágunk ki, amit 4',6'-diamino-2-fenilindollal ($1 \mu\text{g ml}^{-1}$) festettünk, majd előkészítettük a mikroszkópos elemzéshez.

A mintákat Nikon 80i epifluoreszcens mikroszkópban, 1000x-es nagyításnál értékeltük, és az Image-Pro Plus program (MediaCybernetics, Egyesült Államok) segítségével mintánként 10 látótérrel fényképeket készítettünk. A festődött sejtek számolását manuálisan végeztük képenként, majd a kapott értékeket átlagoltuk.

4.6. Tenyésztésen alapuló vizsgálatok

4.6.1 Baktériumtörzsek tenyésztésbe vonása

Tenyésztésen alapuló vizsgálatok céljából, a 2013 áprilisában vett tóvíz- és üledékmintákból steril víz felhasználásával tízes léptékű, hat tagú hígítási sort készítettünk, majd ennek mind a hat tagjából R2A tápagar (DSMZ R2A Medium) lemez felszínére 0,1-0,1 ml-t szélesztettünk. A tározótó vizének alkalikus pH-ját figyelembe véve a tenyésztéshez használt tápagar lemezek pH-ját minden esetben 9,0-re állítottuk be Na_2CO_3 segítségével. A táptalajt autoklávban 121°C hőmérsékleten, 100 kPa nyomáson 20 percig sterilizáltuk. Az egy hetes 28°C -os inkubációt követően kifejlődött különálló telepeket véletlenszerűen R2A ferde agarra izoláltuk, és tisztaságukat ellenőriztük. A tápagarokon egy-, majd kéthetes inkubáció után telepszámlálást is végeztünk mindegyik mintából.

4.6.2 A baktériumtörzsek genotípusos vizsgálata

A genotípusos vizsgálat során a baktériumtörzsek tiszta tenyészetéből elsőként steril üveggyöngyös (\varnothing kb. 0,1 mm) fizikai feltárással DNS-t izoláltunk. Az izolált DNS-ből a 16S rRNS-t kódoló régiót PCR segítségével szaporítottuk fel 27F (5'-AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG-3') (Lane 1991) és 1401R (5'-GGG-TGT-GTA-CAA-GAC-CC-3') (Nübel és mtsai 1996) primerekkel.

Reakciónként 49 µl premix térfogatba 1 µl DNS templátot mértünk (4.3 táblázat), a PCR a 4.4-es táblázatban feltüntetett módon zajlott.

4.3 táblázat – A baktériumtörzsek genotípusos vizsgálata során használt PCR reakció összetevői

Felhasznált reagensek és gyártóik	Térfogat
10x PCR puffer (Thermo Scientific DreamTaq™ Buffer, incl.: 20 mM MgCl ₂)	5 µl
dNTP keverék (Thermo Scientific, 1 mM dATP, 1 mM dGTP, 1 mM dCTP, 1 mM dTTP)	10 µl
Forward primer (3,25 x 10 ⁻⁵ M)	0,5 µl
Reverse primer (3,25 x 10 ⁻⁵ M)	0,5 µl
dH ₂ O (desztillált víz - DEPC-kezelt, filtersterilizált)	32,8 µl
DreamTaq™ DNA polymerase (Thermo Scientific, 5u/µl, 500 unit)	0,2 µl
DNS templát	1 µl
Össztérfogat	50 µl

4.4 táblázat – A baktériumtörzsek genotípusos vizsgálata során alkalmazott PCR reakció hőprofilja

PCR	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklusszám
kezdeti denaturáció	95°C	3 min	1x
denaturáció	94°C	30 sec	32x
anneláció	52°C	30 sec	
extenzió	72°C	90 sec	
végző extenzió	72°C	10 min	1x
hűtés	4°C	∞	

A PCR termékek jelenlétét és minőségét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük 1%-os agaróz gélben.

4.6.3 ARDRA alapú csoportosítás

Az ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) egy molekuláris ujjlenyomat-technika, mely során a felsokszorozott (itt) a tenyésztésbe vont törzsekből izolált 16S rRNS génszakaszokat, valamint a klóntárakból származó egyéni 16S rRNS génszakaszokat *Hin*6I és *Bsu*RI restrikciós endonukleáz enzimekkel hasítottuk két különböző reakcióban.

Minden mintához enzimenként a 4.5 táblázatban szereplő premix oldatot mértük össze.

A premixet 9 µl-enként 0,6 ml-es mikrocentrifuga csövekbe mértük szét és 11-11 µl templátot (PCR terméket) pipettáztunk a reakcióelegyhez. A mintákat 37 °C-os vízfürdőben három órán keresztül inkubáltuk. Az emésztett DNS terméket 2%-os agaróz gélben detektáltuk. A mintázati csoportokat manuálisan alakítottuk ki a sávmintázat egyezése alapján, Picasa 3 (Google, Egyesült Államok) és CorelDRAW (Corel, Egyesült Államok) szoftverek segítségével.

4.5 táblázat - Az ARDRA premix összetétele (mintánként)

A hasításhoz felhasznált reagensek	Térfogat
<u>Puffer (Tango vagy R)</u> 10X Buffer Tango with BSA, a <i>Hin</i> 6I enzim puffere (Thermo Scientific, #BY5) 10X Buffer R with BSA, a <i>Bsu</i> RI enzim puffere (Thermo Scientific, #BR5)	2 µl
dH ₂ O (desztillált víz - DEPC-kezelt, filtersterilizált)	6,76µl
<u>Enzim (<i>Hin</i>6I vagy <i>Bsu</i>RI)</u> <i>Hin</i> 6I (<i>Hin</i> P1I) 10u/µl, 200u (Thermo Scientific, #ER0481) <i>Bsu</i> RI (<i>Hae</i> III) 10u/µl, 200u (Thermo Scientific, #ER0151)	0,24 µl

A különféle hasítási mintázatok alapján az egyes szekvenciákat csoportosítottuk, a mindkét enzimre megegyező mintázatot adókat azonos csoportba helyeztük. Az egyedi hasítási mintázattal rendelkező külön csoportok egy-egy tagjára új PCR reakciót raktunk össze az előzőleg használt primerekkel.

4.6.4 A DNS bázissorrendjének meghatározása és a szekvenciák értékelése

Ebben az alfejezetben az egyszerűség kedvéért együtt tárgyaljuk a tenyésztésbe vont baktériumtörzsek, a DGGE csíkokból izolált DNS szakaszok és a reprezentatív molekuláris klónok (ez utóbbi két módszer leírására később térünk ki) bázissorrendjének meghatározását, a szekvenciák elemzését és adatbázisokban való elillesztését.

A kapott parciális 16S rRNS gén szekvenciákat az LGC Genomics (Berlin, Németország) szolgáltatását igénybe véve szekvenáltattuk meg. A bázissorrend meghatározást a tenyésztésbe vont baktériumtörzsek, a kivágott DGGE csíkok és a Bacteria klónok esetén 27F primer, az Archaea klónok esetében A109F primer felhasználásával a jelölt terminátorú ciklikus (automatizált Sanger-féle) módszerrel végezték.

A kapott DNS-szakaszok faji szintű azonosítását a 16S rRNS gén bázissorrend elemzésére alapoztuk. Az AB1 formátumú visszkapott kromatogramokat a Chromas program (Technelysium Pty Ltd, Tewantin, Ausztrália) segítségével manuálisan korrigáltuk, a primerek szekvenciáit, valamint a túl zavaros szekvencia részleteket eltávolítottuk. A kapott szekvenciák taxonómiai hovatartozását a BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) algoritmussal az NCBI internetes adatbázison, valamint az EzBioCloud adatbázis (Kim és mtsai 2012) (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>) segítségével határoztuk meg.

A baktériumtörzsek esetén a filogenetikai dendrogramot a MEGA7 szoftver (Kumar és mtsai 2016) felhasználásával szerkesztettünk. A rokonsági viszonyok rekonstruálását a Kimura 2-paraméteres modellen alapuló Maximum Likelihood módszerrel végeztük el (Kimura 1980). A legnagyobb valószínűséggel rendelkező törzsfát közöltük. A heurisztikus kereséshez szükséges fák

a következő eljárás eredményei: az MCL-lel megbecsült páronkénti távolságokra automatikusan alkalmaztuk a neighbour-joining algoritmust, majd kiválasztottuk a nagyobb logaritmikus valószínűséggel bíró topológiákat. Az analízis 75 nukleotid szekvenciát tartalmazott. A végleges adatkészletben összesen 666 pozíció található. Az evolúciós analíziseket a MEGA7 szoftverrel, az elkészült törzsfa szerkesztését az iTOL felületén végeztük (Letunic és Bork 2016). A DNS szekvenciákat az European Nucleotide Archive (European Nucleotide Archive > EMBL-EBI) adatbázisába töltöttük föl, ahol a következő kódszámok (4.6 táblázat) alapján találhatók meg.

4.6 táblázat – Az EMBL-EBI adatbázisában elhelyezett szekvenciáink

16s rRNS gén szekvenciák forrása	Kódszám (Accession Number)
Tenyésztésbe vont baktériumtörzsek	LT800121-LT800166
DGGE gélből kivágott csíkok	LN794643-LN794664
Bacteria klóntárak reprezentánsai	LT800167-LT800489
Archaea klóntárak reprezentánsai	LT800003-LT800120

4.7 Tenyésztéstől független közösségszerkezeti vizsgálatok

4.7.1 Mintaelőkészítés és közösségi DNS izolálás

Mintatípustól függően 1500 ml befolyóvizet (IW) és 10-50 ml tóvizet szűrtünk át 0,2 µm pórusátmérőjű polikarbonát szűrőkön (ME 25/21 0.2 STL, Whatman, Maidstone, Anglia). Az üledékmintákból mintánként körülbelül 4-5 g-nyi mennyiséget tömörítettünk centrifugálással (14,000 rpm, 2 perc). A közösségi DNS-t a tömörített üledékmintákból és a steril ollóval feldarabolt filterekről PowerSoil® DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories Inc. Carlsbad, USA) segítségével izoláltuk a gyártó útmutatása szerint. Az így kinyert közösségi DNS-t többféle módszerrel vizsgáltuk tovább.

4.7.2 Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)

A DGGE analízishez a DNS 16S rRNS-t kódoló régióját két, egymást követő PCR lépésben szaporítottuk fel.

Az első reakcióban 27F (5'-AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG-3') és 1401R (5'-CGG-TGT-GTA-CAA-GAC-CC-3') primereket használtunk, míg a második reakcióban (seminested PCR) egy GC-kapoccsal elátott 27F primert (5'-CGC-CCG-CCG-CGC-GCG-GCG-GGC-GGG-GCG-GGG-GCA-CGG-GGG-AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG-3') és az 519R primert (5'-ATT-ACC-GCG-GCT-GCT-GG-3')

alkalmaztuk (Muyzer, de Waal, és Uitterlinden 1993). A PCR részletes hőprofilját a 4.7-es táblázat táblázat szemlélteti.

4.7 táblázat – A DGGE vizsgálatba vont minták 16S rRNS génjének amplifikálásához használt PCR hőprofilok

	1. 16S PCR			2. Nested PCR		
	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklusszám	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklusszám
kezdeti denaturáció	98°C	3 min	1x	96°C	30 sec	1x
denaturáció	94°C	30 sec	32x	94°C	30 sec	32x
annelláció	52°C	30 sec		52°C	30 sec	
extenzió	72°C	90 sec		72°C	90 sec	
végző extenzió	72°C	10 min	1x	72°C	10 min	1x
hűtés	4°C	∞		4°C	∞	

A DGGE-hez Ingeny PhorU készüléket (Ingeny International, Goes, Hollandia) használtunk HYBAID PS250 futtatóegységgel (Thermo Hybaid, Egyesült Államok). A PCR termékeket 7%-os poliakrilamid gélben futtattuk meg, ami 40-60% közötti töménységben tartalmazott ureát és formamidot egy koncentráció-grádiens létrehozva (4.8-as táblázat). A polimerizáció elindításához 0,1 g ammónium-perszulfátot oldottunk fel 0,5 ml desztillált vízben. A minták gélbe töltéséhez töltőpuffert (Thermo Scientific™ 6x DNA Loading Dye, #R0611) használtunk.

4.8 táblázat - A denaturáló gél összetevői

Denaturáló gél	Felhasznált anyagok	40%	60%
7%-os akrilamid gél	akrilamid (40%)	4,2 ml	4,2 ml
	50% TAE-puffer	480 ml	480 ml
	urea (karbamid)	4 g	6 g
	formamid	3,84 ml	5,76 ml
	desztillált víz	24 ml-re egészítjük ki vele az elegyet	

A minták DNS-ének futtatása 1%-os TAE pufferben 60°C-on, 120 V feszültség értéken 14-15 órán át történt. Ennek során a közösségi DNS-ből származó egyes taxonokra jellemző, közel azonos hosszúságú, de eltérő szekvenciájú 16S rRNS génszakaszok bázissorrendjüktől és összetételüktől függően különböző denaturáló ágens koncentrációknál denaturálódtak és mozgásuk a gélben megállt. A DGGE gél megfestéséhez etídium bromidot használtunk, a gélről UV transzilluminátorral készítettünk felvételeket.

A DGGE gélből a mintázat alapján az egyedi sávokat steril szikével kivágtuk. A DNS-t a kivágott sávokból úgy vontuk ki, hogy a géldarabokat egyenként 30 µl ultratiszta vízben inkubáltuk 4°C-on egy napig, amit egy centrifugálási lépés követett (3000 rpm, 5 másodperc).

A kivágott DGGE gélsávokat reprezentáló bakteriális taxonok azonosítása a 16S rRNS gén szekvencia homológiáján alapult, melyet PCR segítségével amplifikáltunk az előzőekben ismertetett módon (4.8 táblázat, az 1. 16S PCR leírása). A PCR termékek szekvenálását és a szekvenciák feldolgozását a 4.6.4-es alfejezetben ismertettük.

4.7.3 Molekuláris klontárak létrehozása és feldolgozása

A kinyert közösségi DNS-ből Archaea és Bacteria specifikus klontárakat hoztunk létre, hogy nagyobb részletességgel tanulmányozhassuk a közösségek összetételét. A tavak közül részletesen a BT1 és a BT4 tavakat vizsgáltuk; ezek három mintatípusát (tóvíz, üledék és biofilm) használtuk fel a molekuláris klontár elemzésekhez a 2012-es szeptemberi mintavétel alkalmával.

A DNS izolálás során kinyert közösségi DNS 16S rRNS-t kódoló szakaszát felszaporítottuk a Bacteria klontárak esetén a már előzőleg említett 27F és 1401R, az Archaea klontárak esetén az A109F (5'-ACK-GCT-CAG-TAA-CAC-GT-3') (Grosskopf, Janssen, és Liesack 1998) és az A958R (5'-YCC-GGC-GTT-GAM-TCC-AAT-T-3') (DeLong 1992) primerek segítségével. A reakcióelegy mindkét esetben megfelelt a 4.3-as táblázatban ismertetettekkel.

A klontárak létesítésekor a közösségi DNS-ből felszaporított 16S rRNS génszakaszok a kompetens *E. coli* sejtekbe klónozáskor váltak szét olyan módon, hogy egy sejt csak egy vektort vett fel, mely egy egyedi szakaszt tartalmazott és egy 96-os mikrotiter lemezek felhasználásával ezeket a szakaszokat egyedi PCR során sokszorozítottuk fel.

4.9 táblázat – Az Archaea specifikus Touch Down PCR hőprofilja

	Archaea Touch Down PCR		
	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklusszám
pre-PCR	98°C	3 min	1x
	95°C	3 min	1x
denaturáció	94°C	30 sec	20x
annealáció	60°C*	30 sec	
extenzió	72°C	70 sec	
denaturáció	94°C	30 sec	15x
annealáció	50°C	30 sec	
extenzió	72°C	70 sec	
végző extenzió	72°C	30 min	1x
hűtés	4°C	∞	

*A csillag jelöli anellációs hőmérséklet ciklusonkénti 0,5°C-os csökkenését

A Bacteria-specifikus PCR hőprofilja azonos volt a 4.4-es táblázatban közölt adatokkal, eltekintve attól, hogy itt 30 perces végső extenziót használtunk. A reakció során alkalmazott *Taq* DNS polimeráz terminális transzferáz aktivitásának köszönhetően az amplikonokat egy túlnyúló adenin nukleotiddal látja el, alkalmassá téve azokat TA-klónozó vektorokba történő ligálásra, ennek biztosítása végett használtunk hosszabb végső extenziót.

Az Archaea klóntárak esetében esetében egy – a fentitől eltérő – ún. Touch Down PCR hőprofil alkalmaztunk, amely ciklusonként 0,5 °C-ot hűl, így lehetőséget nyújt arra, hogy az alkalmazott primerek hatékonyan bekötődjenek. Ennek részleteit a 4.9-es táblázat szemlélteti.

A PCR termékeket tisztítás után (EZ-10 Spin Column PCR Purification Kit, BIO-BASIC Inc. Kanada) klónozó vektorba ligáltuk (pGEM®-T Easy Vector Systems, Promega, Egyesült Államok). Ennek során a következő elegyet (4.10-es táblázat) készítettük el mikrocentrifuga csövekben:

4.10 táblázat - A ligáló premix összetétele (mintánként)

Összetevők	Térfogat
2x Rapid Ligation Buffer, T4 DNA ligase	5 µl
pGEM®-T Vector (50 ng/µl)	1 µl
T4 DNA ligase (3 Weiss units/µl)	1 µl
tisztított PCR-termék	3 µl

A csöveket 24 órán át 4 °C-on inkubáltuk, majd *E. coli* JM109 kompetens sejtekbe (Promega High Efficiency Competent Cells, Egyesült Államok) transzformáltuk a gyártó útmutatásai szerint.

A klónozó vektorba épült inzert DNS szekvencia kinyeréséhez két egymást követő PCR-t végeztünk. Először a vektorra specifikus M13F (5'-CAG-GAA-ACA-GCT-ATG-AC-3') és M13R (5'-GTA-AAA-CGA-CGG-CCA-G-3') primereket (Messing 1983) (Integrated DNA Technologies, Inc., USA) használtunk annak érdekében, hogy túlsúlyba kerüljön az inzert templát mennyisége, és ezáltal a később használt univerzális primerek ezt, és ne az *E. coli* gazdasejt saját 16S rRNS génjét sokszorozzák fel. Ezután egy nested PCR-t végeztünk, Bacteria klóntárak esetében 27F és 1401R, Archaea klóntárak esetén A109F és A958R primerekkel – ez a reakció már kizárólag az inzert szekvenciát sokszorozta fel. Ez utóbbira azért volt szükség, mert az inzert a vektorba két irányban is bekötődhet, így egyazon filotípus inzertje az ARDRA hasítás során kétféle mintázatot is adhat a különböző hosszúságú közrefogó vektor szakaszok következtében, miáltal a valós diverzitás túlbecsülhető. A nested PCR hőprofilja megegyezett a klóntárak létrehozásakor ismertetettel, azzal a különbséggel, hogy a végső extenzió itt ismét 10 percre módosult, és mindegyik PCR reakció feltérfogatban (azaz 25 µl-ben) zajlott.

A továbbiakban a kapott 16S rDNS inzerteket restrikciós endonukleázokkal emésztettük, ez alapján különítettük el a reprezentatív csoportokat és küldtük szekvenálásra az egymástól eltérő mintázatot mutató PCR-termékeket, ahogy azt előzőleg a 4.6.3-as alfejezetben ismertettük. A szekvenciák feldolgozását, szerkesztését és adatbázisokhoz illesztését 4.6.4-es alfejezetben tárgyaltuk részletesen.

A molekuláris klóntárakkal való munka során azok 4.11-es táblázatban lévő azonosítókat kapták.

4.11 táblázat – A molekuláris klóntárak jelölése

Bacteria molekuláris klóntárak elnevezése		Archaea molekuláris klóntárak elnevezése	
Bacterial Clone BT1 Water	BC_BT1W	Archeal Clone BT1 Water	AC_BT1W
Bacterial Clone BT1 Sediment	BC_BT1S	Archeal Clone BT1 Sediment	AC_BT1S
Bacterial Clone BT1 Biofilm	BC_BT1B	Archeal Clone BT1 Biofilm	AC_BT1B
Bacterial Clone BT4 Water	BC_BT4W	Archeal Clone BT4 Water	AC_BT4W
Bacterial Clone BT4 Sediment	BC_BT4S	Archeal Clone BT4 Sediment	AC_BT4S
Bacterial Clone BT4 Biofilm	BC_BT4B	Archeal Clone BT4 Biofilm	AC_BT4B

4.7.4 A mikrobaközösségek összetételének feltárása piroszekvenálással

Vizsgálataink során lehetőségünk nyílt arra is, hogy egy Roche 454-GS Junior Titanium Series (Roche, Basel, Svájc) DNS szekvenáló platformon dolgozzunk, és így néhány kiválasztott minta közösségösszetételét a korábbiaknál nagyobb részletességgel tudtuk feltárni.

Újgenerációs szekvenálásra összesen négy mintát készítettünk elő, a 2013-as júliusi mintavételből a következő jelzésűeket: W1_1307, S1_1307, W4_1307, S4_1307, valamint egy negatív kontrollt. Ezáltal – a klóntárakhoz hasonlóan – itt is a használt termálvíz áthaladásának kezdő és végpontját monitoroztuk a tóvízben és az üledékben, viszont a klóntárak elemzését követő évben és a legmelegebb hónapban. A piroszekvenálás esetében egy emulziós PCR során történt az egyedi szakaszok különválasztása és amplifikálása, ami több ezres amplikonszámhoz vezetett. Barcode-jelölt szekvenciák szolgálták a szakaszok mintánkénti azonosítására (a reverz-primerek révén), így a kiválasztott tóvíz és üledékminták közösségi DNS-ére összemért első PCR különbözött az eddigi protokolloktól, melynek összetevőit a 4.12-es, a hőprofilját a 4.13-as táblázat ismerteti. A célszekvencia itt is a 16S rRNS génben volt található.

4.12 táblázat – Az piroszekvenáláshoz készült első PCR-hez használt reagensek

Összetevők	Térfogat
5x Phusion High-Fidelity Buffer (Thermo Scientific)	4 µl
dNTPkeverék (Thermo Scientific, 1 mM dATP, 1 mM dGTP, 1 mM dCTP, 1 mM dTTP)	4 µl
Phusion High-Fidelity DNS polimeráz (2 U/µL, Thermo Scientific)	0,2 µl
dH ₂ O (desztillált víz - DEPC-kezelt, filtersterilizált)	9,4 µl
BSA (Thermo Scientific)	0,4 µl
Forward primer IL-B341F-B	0,5 µl
Reverse primer (mintánként különböző)	0,5µl
Templát DNS	1µl
Összesen	20 µl

4.13 táblázat – Az piroszekvenáláshoz készült első PCR hőprofilja

Hőmérséklet	Időtartam	Ciklusszám
98°C	5:00 min	1x
95°C	0:40 min	} 25x
55°C	2:00 min	
72°C	1:00 min	
72°C	10:00 min	1x
4°C		∞

Mintánként (beleértve a negatív kontrollt is) három párhuzamos reakciót készítettünk, hogy ezáltal kiküszöbölhető legyenek a véletlenszerű eltérések. A kapott párhuzamosokból 15-15 µl-t összemértünk és a Roche High Pure PCR Cleanup Micro Kittel (Version 4.0) (Roche/454 Life Sciences, Branford, CT, USA), a gyártó utasításai szerint megtisztítottuk a PCR termékeket. Ezt követően a DNS koncentrációját mértük meg Bioanalyzer műszer (2100 Bioanalyzer Instrument, Agilent Technologies, Santa Clara, USA), valamint a High Sensitivity DNA Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) segítségével, majd a kapott értékek szerint hígítottuk a mintáinkat. A hígított minták koncentrációját tovább finomítottuk ($2 \cdot 10^7$ molekula / 20 µl) Qubit 2.0 fluorometriás DNS/RNS koncentráció mérő eszközzel (Invitrogen, Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA), majd az összes mintát összemértük ultratiszta vízbe a végtérfogatot 500 µl-re állítva.

Az emulziós PCR-hez a GS Junior Titanium emPCR Lib-L kitet használtuk a gyártó utasításai szerint (emPCR Amplification Method Manual-Lib-L, Roche/454 Life Sciences). Az emulziós PCR-t követően minden DNS-kötő gyöngy a PicoTiter lemez 29 µm átmérőjű barázdáiba került, mely a következő reagenseket tartalmazta: szekvenáló primer, DNS polimeráz, ATP szulfuriláz, luciferáz, apiráz, adenzin 5' foszfoszulfát (APS) és luciferin. Ezután a PicoTiter lemez bekerült a

szekvenátorba, ahol a DNS bázissorrend meghatározása a piroszekvenálás elvei alapján zajlott (Nyren, Pettersson, és Uhlen 1993; Ronaghi, Uhlén, és Nyrén 1998).

A futás végén az adatfájlokból szűrésre kerültek a homopolimerek és az az egy szekvenciával reprezentált OTU-k (szingletonok), valamint a szekvenciák egy zajtalanítási folyamaton (denoising) is átestek. Munkánkhoz a Mothur programot (Dr. Patrick Schloss, Michigan, USA) használtuk 454 standard feldolgozási eljárásnak megfelelően. A kiméra szekvenciákat uChime program (Edgar és mtsai 2011) segítségével távolítottuk el. A további vizsgálatokból a kloroplasztisz és mitokondrium eredetű szekvenciákat kizártuk. Ezt követően eredményeinket az ARB-SILVA (Arb-Sylva Database n.d.) adatbázissal illesztettük, 97% hasonlóságot meghatározva OTU azonossággént (Busse és mtsai 2010). Klaszterezésre az „average neighbour” algoritmust használtuk (<https://www.mothur.org/wiki/Cluster>). A teljes adatsorban 2990 szekvenciát azonosítottunk szingletonként és 9616-ot kiméraként. A piroszekvenálással nyert amplikonok szekvenciái és a minták adatai a BioSample és az SRA adatbázisokban találhatóak meg a PRJNA483737 BioProject azonosító alatt.

Adataink megjelenítésére a Tableau Public programmal (Free Data Visualization Software | Tableau Public) szerkesztettünk buborékdiagramokat, melyeket az InkScape vektorgrafikus programban (Draw Freely | Inkscape) rajzoltunk át és optimalizáltunk.

Az amplikontárakkal való munka során azok a következő azonosítókat kapták: NGS (mint **New Generation Sequencing** – újgenerációs szekvenálás) előtag után a tó jelzése és száma következett, majd a minta típusa (4.14-es táblázat). A táblázatban feltüntettük az amplikontárakból származó egyedi szekvenciák és OTU-k számát is.

4.14 táblázat – Az amplikontárak jelölése és jellemzői

Leírás	Elnevezés	Szekvenciák	OTU-k száma
NGS_ BT1 Sediment	NGS_BT1S	4827	523
NGS_ BT1 Water	NGS_BT1W	7486	61
NGS_ BT4 Sediment	NGS_BT4S	5300	459
NGS_ BT4 Water	NGS_BT4W	6536	193

4.7.5 Adataink statisztikai elemzése és az alkalmazott diverzitás indexek

A tenyésztésbe vont baktériumtörzsek szemléltetésére létrehozott filogenetikai fa létrehozásáról és annak statisztikai hátteréről részletesen a 4.6.4 alfejezetben írtunk.

A DGGE géleket a TotalLab (TL120) v2006 szoftver (Non-linear Dynamics Inc., Newcastle upon Tyne, Egyesült Királyság) használatával elemeztük. A minták egyedi sávmintázatát - mely

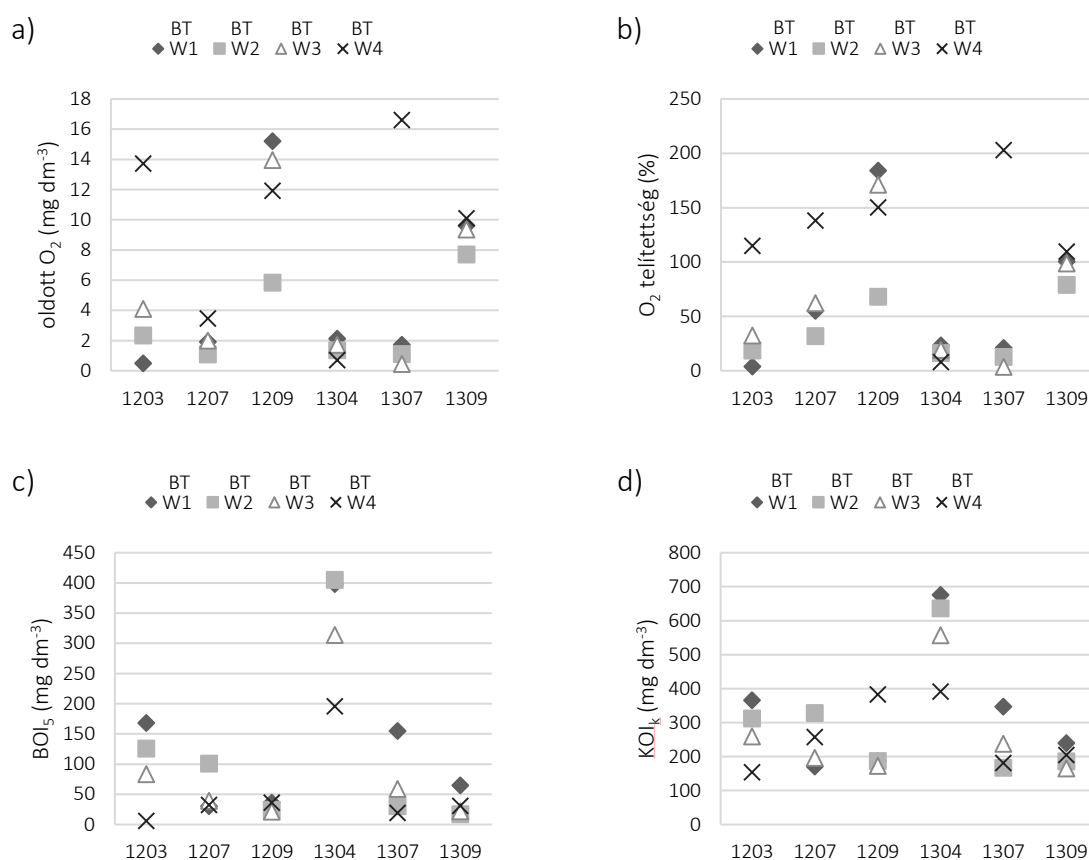
egyes taxonómiai csoportok jelenlétére vagy hiányára utalt a közösségben – hasonlítottuk össze egymással és erre alapozva UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages) dendrogramokat készítettünk a TotalLab (TL120) programban.

A molekuláris klontárak esetén a fajtelítődési (rarefaction) görbék, a PCA (Principal Component Analysis) diagramok, a Bray-Curtis hasonlóság alapján készült dendrogramok és a diverzitás indexek (Simpson 1-D és Shannon-H alfadiverzitás indexek, valamint Whittaker-féle bétadiverzitás indexek) a Past program (Hammer Øyvind) segítségével készültek. Az amplikontárak esetében a a fajtelítődési görbék és a diverzitásindex-értékek meghatározásához a Mothur programot (Dr. Patrick Schloss, Michigan, USA) használtuk, a PCA diagramok, és a Bray-Curtis dendrogram elkészítéséhez a Past programot alkalmaztuk.

5. Eredmények ismertetése

5.1 A vízminőségi vizsgálatok eredményei

A tározórendszer vízminőségi változásait a „Felszíni vizek minősége, minőségi jellemzők és minősítés” c. MSZ 12749:1993 jelzetű, visszavont magyar szabvány szerint értékeltük. A mért paramétereket az oxigénháztartás, a tápanyagok, a mikroszennyezők és egyéb jellemzők szerint csoportokra különítve minősítettük. A különböző vízminőségi osztályokra vonatkozó osztályozási elvek és a határértékek a Függelék 1. és 2. táblázatában találhatók meg.



5.1 ábra – A tavak oxigénháztartása tóvíz-mintáknént (BT1W, BT2W, BT3W, BT4W) és mintavételi időpontonként

a) oldott oxigén, b) oxigéntelítettség (%), c) biológiai oxigénigény (BOI_5), d) kémiai oxigénigény (KOI_k)

Az oldott oxigén koncentrációt alapul véve (5.1-a ábra) a BTW4-es tóvízben a tanulmányozott időszakban aerob állapotok voltak jellemzők. Ez alól csak 2013 áprilisa volt kivétel, amit márciusban szokatlanul heves esőzések és belvíz előzött meg. A márciusi jelentős csapadékmennyiség hatása az első három tó vizében (BTW1-BTW3) még 2013 júliusában is érzékelhető volt; ezek a tavak anoxikushoz közeli állapotban voltak. A tározási időszak végére

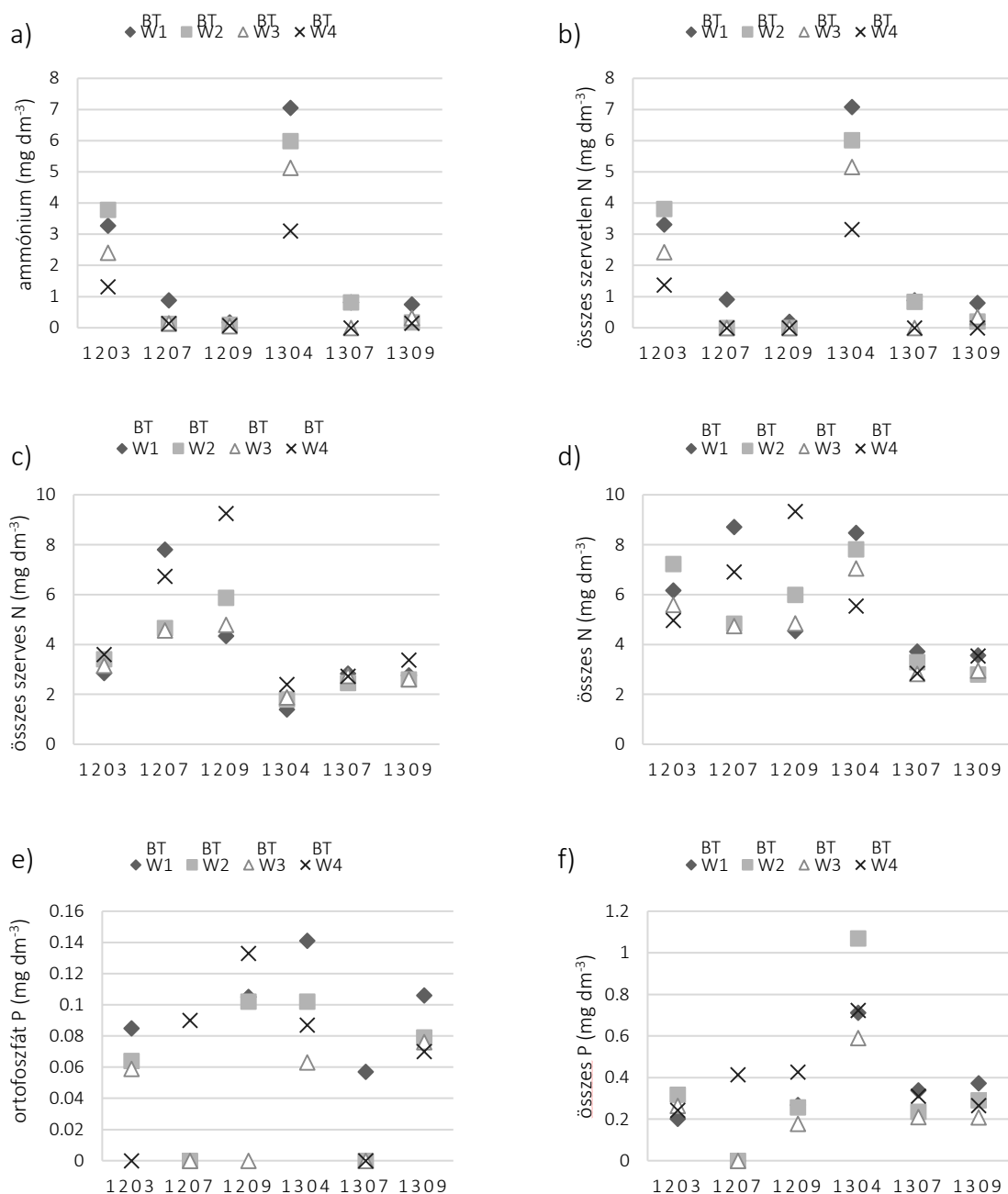
azonban a négy tó oxigén-telítettségi értékei elérték a II. osztályú, „jó” minőségű vízre jellemző határértéket mindkét vizsgált évben.

Az oxigéntelítettségi értékek (5.2-b ábra) a BT4-es tóban többnyire 100% fölé emelkedtek a tanulmányozott időszakban. 2012-ben növekedtek a tározási periódus alatt, viszont 2013-ban az erősen csapadékos tavaszi és nyári hónapokat követően alacsony értéken maradtak, és csak szeptember elején érték el az I. osztályú, „kiváló” minőségű vízre jellemző értékeket. Tavasz elejéig az oldott oxigén és az oxigéntelítettség értékek mindenhol elérték az I. osztályú, „kiváló” minőségű vízre jellemző értékeket, ez alól kivételt képezett a BT2-es tó vize (BTW2), mely 2012 szeptemberében csak a II. osztályú, „jó” minőségű vízre jellemző értéket érte el.

A BOI_5 és KOI_k értékek (5.1 c-d ábra) hasonlóak és magasabbak voltak a BT1-es, BT2-es és BT3-as tavakban mint a BT4-es tóban, ami a tavak különböző oxigénellátottságával állhat összefüggésben. Mind a BOI_5 , mind a KOI_k értékek csökkentek a tározási időszak vége felé, ez különösen a BT1-es és BT2-es tavakra volt jellemző.

2013 áprilisában mindkét mérőszám kétszer olyan magas volt, mint a többi mintavételi alkalom értékeinek átlaga. Ez is arra utal, hogy az esőzés és a belvíz következtében jelentős volt a környező mezőgazdasági területekről a szerves anyag bemosódás. Mindazonáltal a nyári hónapokra a BOI_5 és a KOI_k értékek az előző év nyarához hasonló értékekre csökkentek. A KOI_k értékek tavasztól a nyár végéig mindkét évben csökkentek, kivéve 2012-ben a BT4-es tóban, ahol a kémiai oxigénigény értékek ellenkező tendenciát követtek, és szeptemberre közel 200 mg dm^{-3} -rel haladták meg a többi tóban mért értékeket. A kezdeti BOI_5 értékek átlagosan ötször magasabbak voltak, mint a tározási időszak végén mért értékek. Sajnos azonban még ez a javulás is kevés volt ahhoz, hogy a biológiai oxigénigény alapján a tavak az V. osztályú, „erősen szennyezett” minőségű víznél jobb besorolást kapjanak. A hat hónapos tározási periódus végére a kémiai oxigénigény értékek általában a felére csökkentek, de ez sem eredményezett a vízminőségben jelentős javulást.

A tóvízből több – a mikrobiális aktivitást befolyásoló – nitrogénformát határoztunk meg (5.2 a-d ábrák). Az ammónium és az összes szervesetlen nitrogén értékek megközelítőleg azonosak voltak, ami arra utal, hogy az egyéb szervesetlen nitrogénformák (nitrit, nitrát) jelenléte elhanyagolható volt a tározórendszerben. Az ammónium és az összes szervesetlen nitrogén értékek változása mindkét évben ugyanazt a trendet követte; a kora tavasszal viszonylag magas és a tavak között eltérő értékek ősz elejére mind a négy tóban hasonló, nagyon alacsony értékre csökkentek.

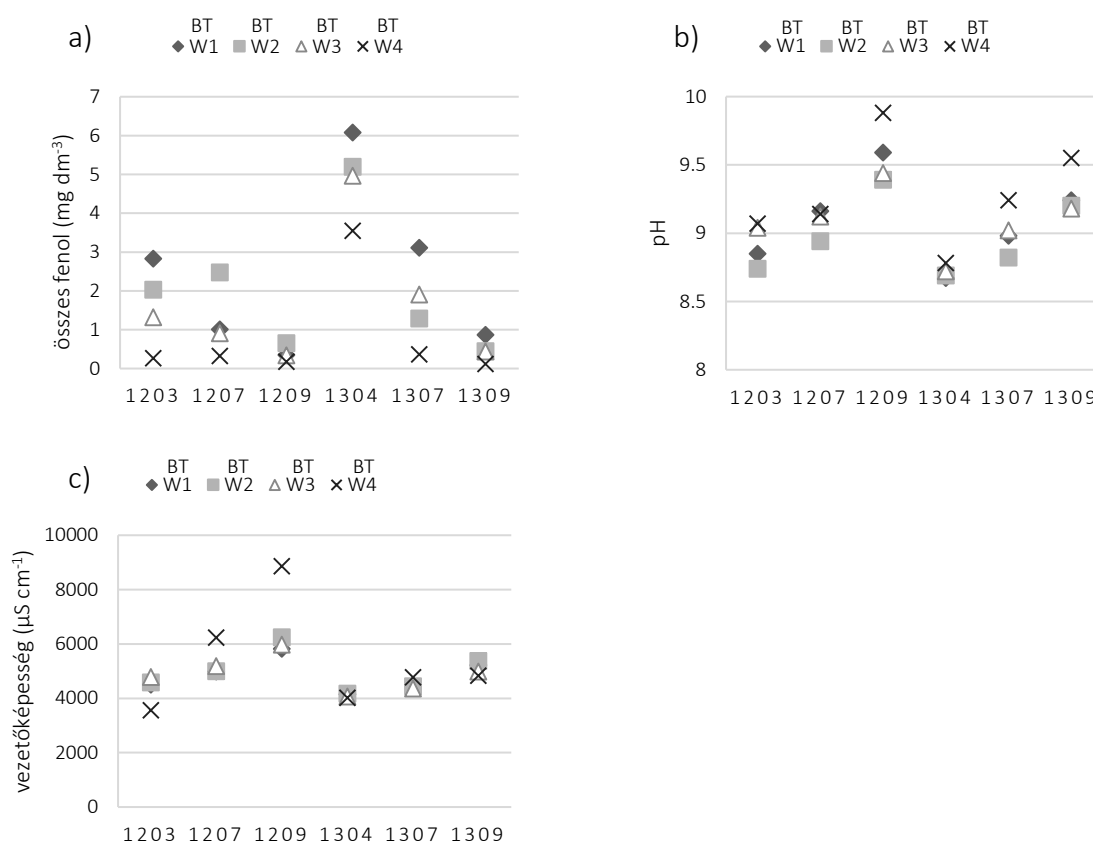


5.2 ábra – Nitrogén- és foszforháztartás tóvíz-mintáknént (BT1W, BT2W, BT3W, BT4W) és mintavételi időpontoként; a) ammónium ion, b) összes szervesetlen nitrogén, c) összes szerves nitrogén, d) összes nitrogén, e) ortofoszfát foszfor, f) összes foszfor

A szerves nitrogén értékek változása ezzel ellentétes trendet követett; mindkét évben és mindegyik tóban tavasszal viszonylag alacsony értékek voltak jellemzők, melyek kora őszre megemelkedtek. Ez arra enged következtetni, hogy a tórendszerben található szerves nitrogén a tározási időszak alatt a mikrobiális biomassza szerves P nitrogénjévé alakult át. Az összes nitrogén növekvő értékei szintén alátámasztják előbbi feltételezésünket, különösen a legnagyobb vízfelülettel rendelkező BT1-es és a BT4-es tavakban. A 2013 tavaszán mért értékek az előző évben mértékekhez hasonlítottak, ezzel szemben 2013 nyarán és őszén viszonylag alacsony összes nitrogén

és összes szerves nitrogén értékeket mértünk. A tározótavak vize az ammónium-nitrogén értékek alapján nyár végére elérte az I. osztályú, „kiváló” minőségű vízre jellemző értékeket.

Az ortofoszfát és az összes foszfor értékek változásában a vizsgált két év alatt eltérő trendet figyeltünk meg – mindkét változó értéke növekedett 2012-ben, míg csökkent 2013-ban (5.2 e-f ábra). A tavak közötti különbségek mind a két évben nagyobbak voltak az ortofoszfát-, mint az összes foszfor értékek esetében. A tanulmányozott időszak alatt az összes foszfor értékek általában a szabvány szerinti II. osztályú, „jó” vízminőségnek feleltek meg, míg az ortofoszfát értékek 2013 nyarára mindegyik tó esetében az I. osztályú, „kiváló” vízminőségi kategóriába estek.



5.3 ábra – Egyéb vízminőségi jellemzők a vizsgált tóvíz-mintáknaként (BT1W, BT2W, BT3W, BT4W) és mintavételi időpontok szerint; a) összes fenol, b) pH, c) vezetőképesség

A fenol és a fenolszármazékok koncentrációja (melyet összes fenolként határoztunk meg) tavasszal viszonylag magas volt, de a tározási időszak alatt, különösen a BT1-es és BT2-es tavakban, értéke jelentősen csökkent (5.3-a ábra). A fenolkoncentráció általában magasabb volt a használt termálvíz befogadó BT1-es tóban, mint a tározó rendszer utolsó, BT4-es tavában. Nyár végéig a összes fenolkoncentráció jóval a felszíni élővizekre vonatkozó határérték alá csökkent. A 2013-as tavaszi áradást követően az egész tórendszer leeresztésre került, melynek bolygató hatása

közvetve a fenolkoncentrációt is befolyásolhatta. Mindazonáltal az áprilisban észlelt megemelkedett értékeket követően a fenolkoncentráció szeptemberben ismét a szabályozási küszöb alá csökkent. A fenolkoncentráció csökkenése a tározási periódus végére II. osztályú, „jó”, III. osztályú, „tűrhető” és I. osztályú, „kiváló” között változó vízminőséget eredményezett.

A pH-értékek változása hasonló volt a két tanulmányozott évben; kora tavasztól késő nyárig a pH-értékek folyamatosan emelkedtek a teljes tórendszerben, és elérték a szennyezett vizekre jellemző pH 9,5-10-es értéket (5.3-b ábra). A pH mindkét vizsgált évben, és mindegyik tóban, különösen a BT4-ben, folyamatosan alkalikus volt. A vezetőképesség értékek hasonlóan változtak a rendszer minden tavában; a hőmérséklet emelkedésével párhuzamosan nőttek, elsősorban a nyári időszakban megnövekedett párolgás miatt (5.3-c ábra), ami a tavak vizének töményedéséhez vezetett. A vezetőképesség értékek magas kezdeti sókoncentrációra utalnak, ami a tározási időszak alatt még tovább növekedett. A sótartalom növekedésének mértéke azonban különbözött a két vizsgált évben, különösen a BT4-es tóban; a 2012-es esztendőben (mely szárazabb volt) az értékek majdnem megduplázódtak, míg a csapadékosabb 2013-as évben a tározási periódus alatt a vezetőképesség változása csekély volt. Emellett 2013-ban a tavak közötti különbségek is elhanyagolhatóak voltak. A tavak – a vezetőképesség értékek alapján – V. osztályú, „erősen szennyezett” minőségű víznek minősültek. Ebből következően az ilyen termálvíz elhelyezésének fő kockázati tényezője a tározási periódus során a párolgás miatt bekövetkező sókoncentráció növekedés. Ez azt jelenti, hogy a tározási periódus végére a használt termálvíz vezetőképessége és pH-értéke magasabb lesz, mint a tározás elején. Sajnálatos módon a tározótó magas természetes sótartalma problémát jelent a tárolt víz természetes víztestekbe való átvezetésekor és sómentesítésre lenne szükség ahhoz, hogy a vizet hígítatlanul élővizekbe engedjék. Mivel helyben nincs sótalánító (deszalinációs) rendszer, ezért a tárolt használt termálvizet általában hígítják, mielőtt az eléri a befogadó víztestet.

5.2 Az epifluoreszcens mikroszkópián alapuló sejtszámlálás eredményei

Az epifluoreszcens mikroszkópián alapuló sejtszámlálás eredményeit az 5.1-es táblázat szemlélteti.

5.1 táblázat – A tározótavak (BT1, BT2, BT3 és BT4) és a befolyó (IW) vizéből ml-enként számolt sejtszámok mintavételi időpont szerint

2012	IW	BT1	BT2	BT3	BT4
Március	$2,34 \pm 0,45 \cdot 10^6$	$1,47 \pm 0,33 \cdot 10^7$	$2,52 \pm 0,28 \cdot 10^7$	$3,38 \pm 0,12 \cdot 10^7$	$2,24 \pm 0,45 \cdot 10^7$
Július	-	$8,92 \pm 2,86 \cdot 10^6$	$4,92 \pm 0,86 \cdot 10^7$	$3,94 \pm 0,54 \cdot 10^7$	$5,07 \pm 0,14 \cdot 10^7$
Szeptember	-	$3,45 \pm 1,30 \cdot 10^7$	$3,24 \pm 0,56 \cdot 10^7$	$2,23 \pm 0,33 \cdot 10^7$	$5,09 \pm 1,19 \cdot 10^7$
Október	$1,98 \pm 0,24 \cdot 10^6$	$1,26 \pm 0,50 \cdot 10^7$	$8,37 \pm 1,68 \cdot 10^6$	$1,05 \pm 0,22 \cdot 10^7$	$2,80 \pm 0,40 \cdot 10^7$

A tározótavakból származó vízmintákban ml-enként átlagosan $2,77 \pm 1,47 \cdot 10^7$ sejtszám értéket határoztunk meg. A tórendszerben 2012 októberében találtuk a legkisebb ($1,49 \pm 0,89 \cdot 10^7$) és júliusban a legnagyobb ($3,71 \pm 1,94 \cdot 10^7$) átlagos sejtszám értékeket, amelyek között mindössze 2,5-szeres volt az eltérés, azonban a júliusi értékektől alig maradtak el a szeptemberiek ($3,50 \pm 1,18 \cdot 10^7$). A négy tó közül a BT1 esetében számoltuk a legkisebb ($1,77 \pm 1,15 \cdot 10^7$), míg a BT4 esetében a legnagyobb ($3,80 \pm 1,50 \cdot 10^7$) átlagos sejtszám értéket. A befolyó csurgalékvízre jellemző értékek egy nagyságrenddel kisebbek voltak a tóvízben észlelt átlagos sejtszám értéknél.

A 5.2-es táblázatban a BT3-as tóból vett mélységi minták sejtszám meghatározásának eredményei találhatók.

5.2 táblázat – A BT3-as tóból 2012 szeptemberben végzett vízmintavételt követően a mélység függvényében meghatározott sejtszám értékek ml-enként. A DAPI-festésen átesett szűrőfiltert fluoreszcens mikroszkóp alatt vizsgáltuk és a látóterekben számolt sejteket átlagolva azt a leszűrt víz mennyiségére vonatkoztattuk.

BT3			
0,0 m	$1,90 \pm 0,44 \cdot 10^7$	3,0 m	$3,08 \pm 1,18 \cdot 10^7$
0,5 m	$1,83 \pm 0,38 \cdot 10^7$	3,5 m	$4,10 \pm 0,33 \cdot 10^7$
1,0 m	$2,45 \pm 0,57 \cdot 10^7$	4,0 m	$3,06 \pm 1,29 \cdot 10^7$
1,5 m	$2,11 \pm 0,38 \cdot 10^7$	4,5 m	$3,61 \pm 0,72 \cdot 10^7$
2,0 m	$2,16 \pm 0,57 \cdot 10^7$	5,0 m	$7,19 \pm 0,75 \cdot 10^7$
2,5 m	$2,83 \pm 0,35 \cdot 10^7$		

A BT3-as tóból 2012 szeptemberében a vízfelszíntől 5 m-es mélységig, 0,5 m-enként történt mélységi vízmintavételezés. A mintákból számolt sejtszámok alakulásában a vízfelszíntől a mélység irányában stabil emelkedést figyeltünk meg (5.2-es táblázat). A legkisebb sejtszámot a 0,5 méterről, a legnagyobb sejtszámot az 5,0 méter mélyről származó vízmintában számoltuk.

5.3 A tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményei

5.3.1 Csíraszámbecslés

A tározótó-rendszer mindegyik tagjának a vízből és az üledékéből is végeztünk tenyésztést a 2013 áprilisi mintavételt követően. Az eredményeinket az 5.3 táblázat szemlélteti.

Általánosságban elmondható, hogy a tenyésztésen alapuló csíraszámbecslés 1-2 nagyságrenddel alacsonyabb értékeket eredményezett, mint az epifluoreszcens mikroszkópián alapuló sejtszám meghatározás. Ez azzal magyarázható, hogy az előbbivel csak az adott körülmények között és az alkalmazott tápközegeken tenyésztésbe vonható baktériumok jelenlétét tudtuk igazolni, míg az utóbbival a mintában jelen lévő valamennyi (élő és holt) baktériumsejt detektálható volt.

5.3 táblázat – A tározótavak vízből és üledékéből a 2013 áprilisi mintavételt követően becsült átlagos csíraszám értékek TKE (Telepképző egység) / ml vagy g

Minta	TKE/ml, g 1. hét	TKE/ml, g 2. hét
BT1W_1304	$1,34 \pm 0,09 \cdot 10^6$	$1,40 \pm 0,07 \cdot 10^6$
BT2W_1304	$1,32 \pm 0,31 \cdot 10^6$	$1,36 \pm 0,35 \cdot 10^6$
BT3W_1304	$1,24 \pm 0,37 \cdot 10^6$	$1,27 \pm 0,40 \cdot 10^6$
BT4W_1304	$8,67 \pm 3,42 \cdot 10^5$	$9,03 \pm 3,10 \cdot 10^5$
BT1S_1304	$8,00 \pm 2,00 \cdot 10^5$	$1,73 \pm 0,31 \cdot 10^6$
BT2S_1304	$3,70 \pm 2,77 \cdot 10^6$	$4,80 \pm 3,91 \cdot 10^6$
BT3S_1304	$1,23 \pm 0,02 \cdot 10^7$	$1,45 \pm 0,08 \cdot 10^7$
BT4S_1304	$5,67 \pm 2,52 \cdot 10^5$	$5,67 \pm 2,52 \cdot 10^5$

A legnagyobb csíraszámokat a BT3-as tó üledékéből mutattuk ki, míg a legkisebbeket szintén az üledékéből, de a BT4-es tóból detektáltuk. A második héten a csíraszámok 1,43-szorosai voltak az első héten becsült értékeknek. Ettől a BT1-es tó üledéke tért el, ahol 1,80-szoros, valamint a BT3-as tó üledéke, ahol 1,72-szeres különbséget tapasztaltunk a két hét csíraszámai között. Az átlagos (egy hét után mért) csíraszám a vízmintákban $1,19 \pm 0,22 \cdot 10^6$, az üledékmintákban $4,35 \pm 5,51 \cdot 10^6$ volt, az utóbbiakban a minták között nagyságrendbeli eltéréseket tapasztaltunk (a medián értéke $1,04 \cdot 10^6$ volt). A vízminták csíraszám megoszlása egységesnek bizonyult, egyedül a BT4-es tóban találtunk alacsonyabb csíraszámot.

5.3.2 A baktériumtörzsek azonosítása

Vizsgálataink során összesen 142 baktériumtörzset izoláltunk, melyeket 38 különböző fajhoz tartozóként azonosítottunk. Az izolált törzseket és azok megoszlását a minták között

részletesen a Függelék 3. táblázata szemlélteti. Az izolátumok négy filogenetikai törzsbe tartoztak; közülük 18 az Actinobacteria, 2 a Bacteroidetes, 63 a Firmicutes és 59 a Proteobacteria törzsbe tartozott. A filogenetikai elemzés eredménye az 5.4-es ábrán látható.

A legtöbb baktériumfajt (14) a BT3-as tó üledékéből sikerült tenyésztésbe vonnunk, ezt követték a BT1-es és a BT4-es tó üledékéből származó minták 13-13 fajjal. A legtöbb különböző fajt (8 db) a vízminták közül a BT4W-ből izoláltuk, míg a BT2-es tó vizéből 6 fajt azonosítottunk.

Tenyésztéses vizsgálataink során a legtöbb izolátum a *Bacillus simplex* fajjal mutatta a legnagyobb szekvencia egyezést (99,79%); az ide tartozó törzsek egységesen oszlottak meg az üledékminták között, ám a vízmintákból ez a faj egyszer sem került elő. Ezzel szemben az izolált *Paracoccus* fajok a vízmintákra voltak inkább jellemzőek; a *P. laeviglucosivorans* fajjal 15 izolátum mutatott nagyfokú hasonlóságot, melyek közül 13-at a vízmintákból izoláltunk. A *P. tibetensis* fajhoz hasonló törzsek közül 8 került elő a víz-, 4 pedig az üledékmintákból.

Az izolátumok megoszlása az azonosított nemzetségek között nem volt egységes: sok genuszhoz csak 1-2 izolátum tartozott, míg pár nemzetség uralta a mintákat. Az utóbbiak közé tartozott a *Bacillus* genusz; a 142 izolátumból 63-at *Bacillus*ként azonosítottunk. A *B. aurantiacus* és *B. cereus* kivételével a vízmintákból nem kerültek elő.

Jelentősebb számban tartoztak a már említett *Paracoccus* genuszhoz az általunk tenyésztésbe vont szervezetek (30), de a *Frigidibacter* (9), a *Pseudomonas* (7), az *Agromyces* (4), és a *Micrococcus* (4) nemzetségekhez is több – a tározótó rendszerből tenyésztésbe vont – törzs tartozott.

A Bacteroidetes törzsből két fajt sikerült tenyésztésbe vonnunk, melyek mindegyike csak 95,00% alatti szekvencia hasonlóságot mutatott a legközelebbi rokon faj *Adhaeribacter aquaticus* (88,98%) és *Flavobacterium orientale* (93,08%) szekvenciájához (5.4-es ábra). Ezek a szervezetek valószínűleg a tudományra nézve új baktériumfajok képviselői lehetnek.

Alphaproteobacteria,
Betaproteobacteria,
Gammaproteobacteria,
Epsilonbacteraeota,
Bacteroidetes, Firmicutes,
Actinobacteria



5.4 A denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) vizsgálatok eredményei

A tórendszer baktériumközösségeinek szerkezetében bekövetkező térbeli és időbeli változásokat mintatípusok (víz, üledék, biofilm) szerint követtük nyomon DGGE-vel, másrészt a BT3-as tóból egy mélységi összehasonlító elemzést is végeztünk. Az UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) dendrogramokat a bakteriális OTU-kat reprezentáló csíkok száma és gélben való elhelyezkedése alapján szerkesztettük TotalLab szoftver alkalmazásával (5.5, 5.6, 5.7, 5.8-as ábrák).

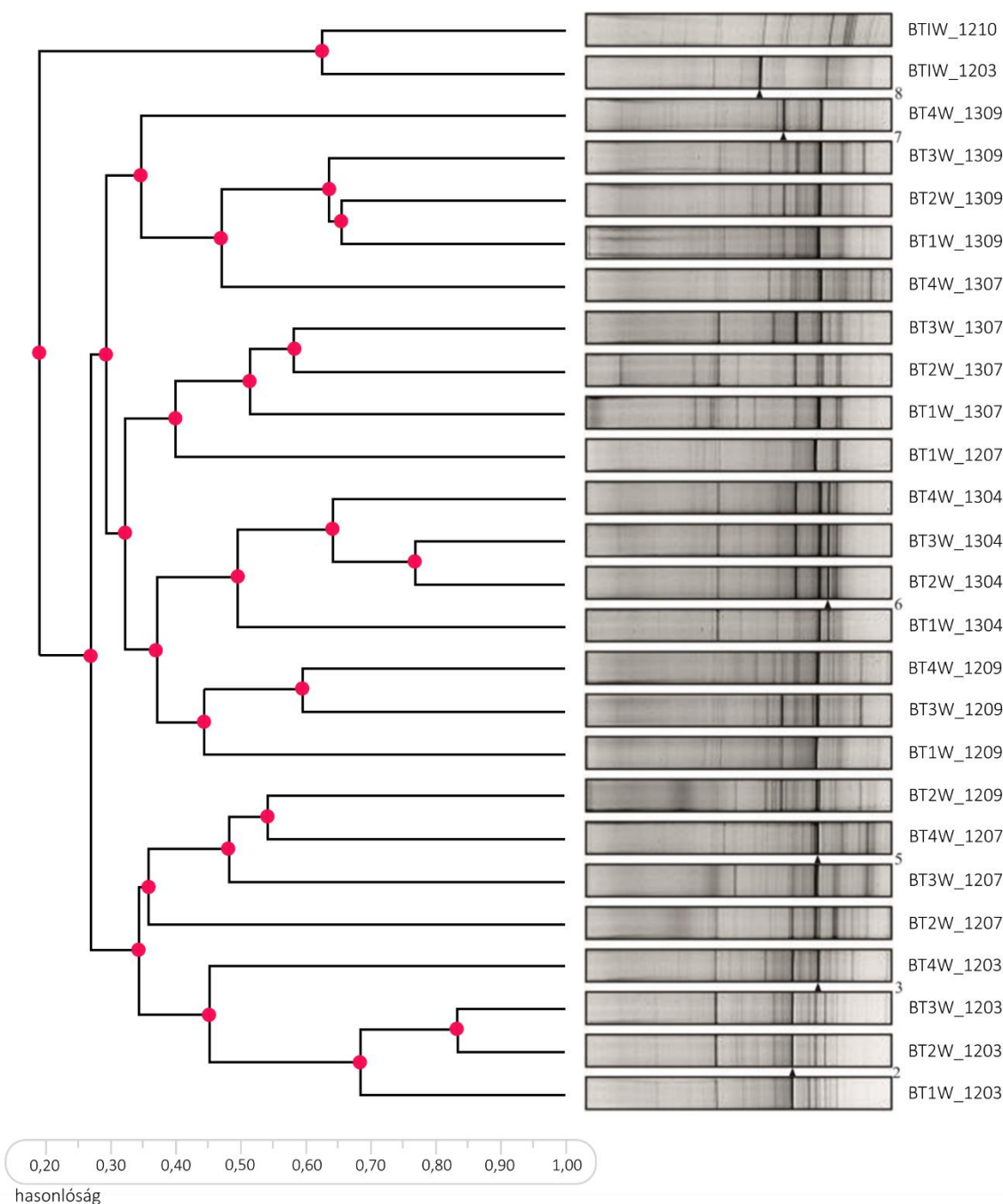
A DGGE gélsávokban a csíkok számából és erősségéből következtethettünk az adott minta diverzitására és egyes taxonok abundanciájára. A géleket összehasonlítva látszik, hogy az üledékmintákban található a legtöbb csíkot (tehát ezek lehettek a legdiverzebb minták), azonban a csíkok egymásra csúszása és elmosódottsága miatt nehéz volt a pontos értéket megbecsülni.

A vízminták közül a legtöbb csíkot (32) a BT4W_1309-es mintában számoltuk, valamint a 2013-as év szeptemberében a többi tóból is hasonlóan sok csíkot regisztráltunk (28 ± 3). A legkevesebb csíkot a tavaszi befolyóvízmintában detektáltuk (13), a tórendszer tavai közül a 2013 áprilisából származó BT4W mintában volt a legkevesebb a csíkok száma (15). Általánosságban elmondható, hogy a vízminták baktériumközösségei tavasztól őszig egyre diverzebbé váltak, mivel ezidő alatt a csíkok száma a mintákban emelkedett. A minta származási helyét figyelembe véve a tavak közül a BT4W mintákban kicsit több csík volt található (26 ± 6), mint a három másik tóban (22 ± 4 ; 24 ± 4 ; 23 ± 5), de az eltérés nem volt jelentős.

Az üledékminták esetében az évszak szerinti eltérések nem voltak számottevőek, viszont 2013 során mindegyik mintában több taxont regisztráltunk (15 ± 3), mint a megelőző évben (11 ± 2). Az üledékminták diverzitásában a származási hely szerint se voltak jelentős különbségek.

A biofilm minták sávmintázatai közül időpont alapján a 2012 júliusból származókban találtuk a legtöbb csíkot (22 ± 6), helyszín alapján a BT1-es tóból származó biofilm mintákat regisztráltuk a legdiverzebbként (22 ± 6), viszont ez utóbbitól alig maradtak el a többi tóból származó minták (18 ± 7 ; 20 ± 2 ; 20 ± 4).

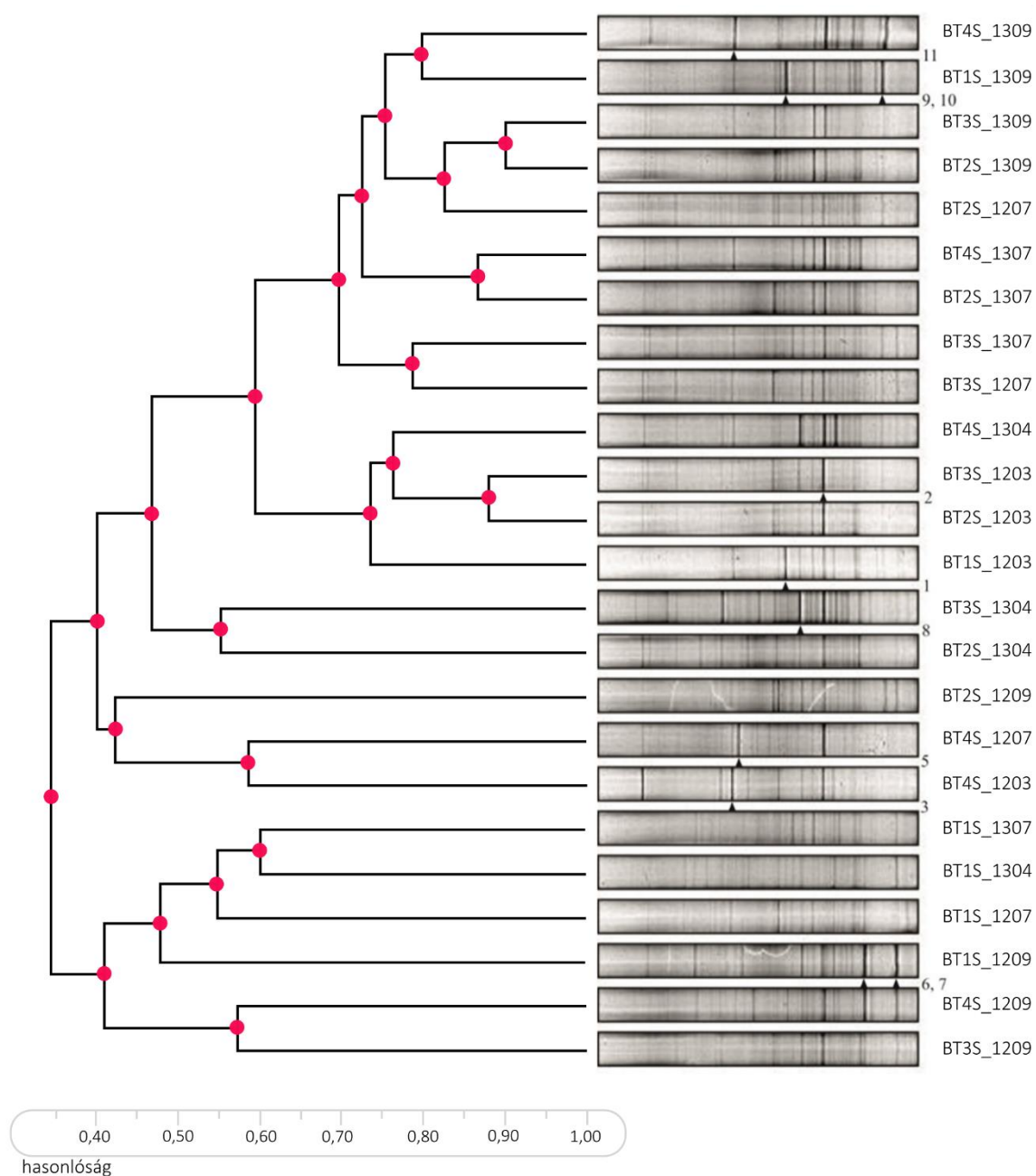
A dendrogramon (5.5 ábra) a befolyóvízminták baktériumközösségszerkezete jelentősen különbözött a tóvízmintákétól. A tóvízminták közösségei elsődlegesen a mintavételi idő szerint csoportosultak, ami arra utal, hogy a baktériumközösségek változását főként az időjárás befolyásolta (4.3 a-b ábra).



5.5 ábra – A Barex tározótó rendszerből 2012-ben és 2013-ban gyűjtött vízminták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram
A fekete nyilak a kivágott csíkokat jelölik, a mellette lévő számok pedig az egyedi csíkok azonosítására szolgálnak (ezekről információt a Függelék 4. táblázata szolgáltat). A dendrogram alatti beosztás a hasonlóság mértékét adja meg (0,00 - nincs egyezés, 1,00 – teljes azonosság).

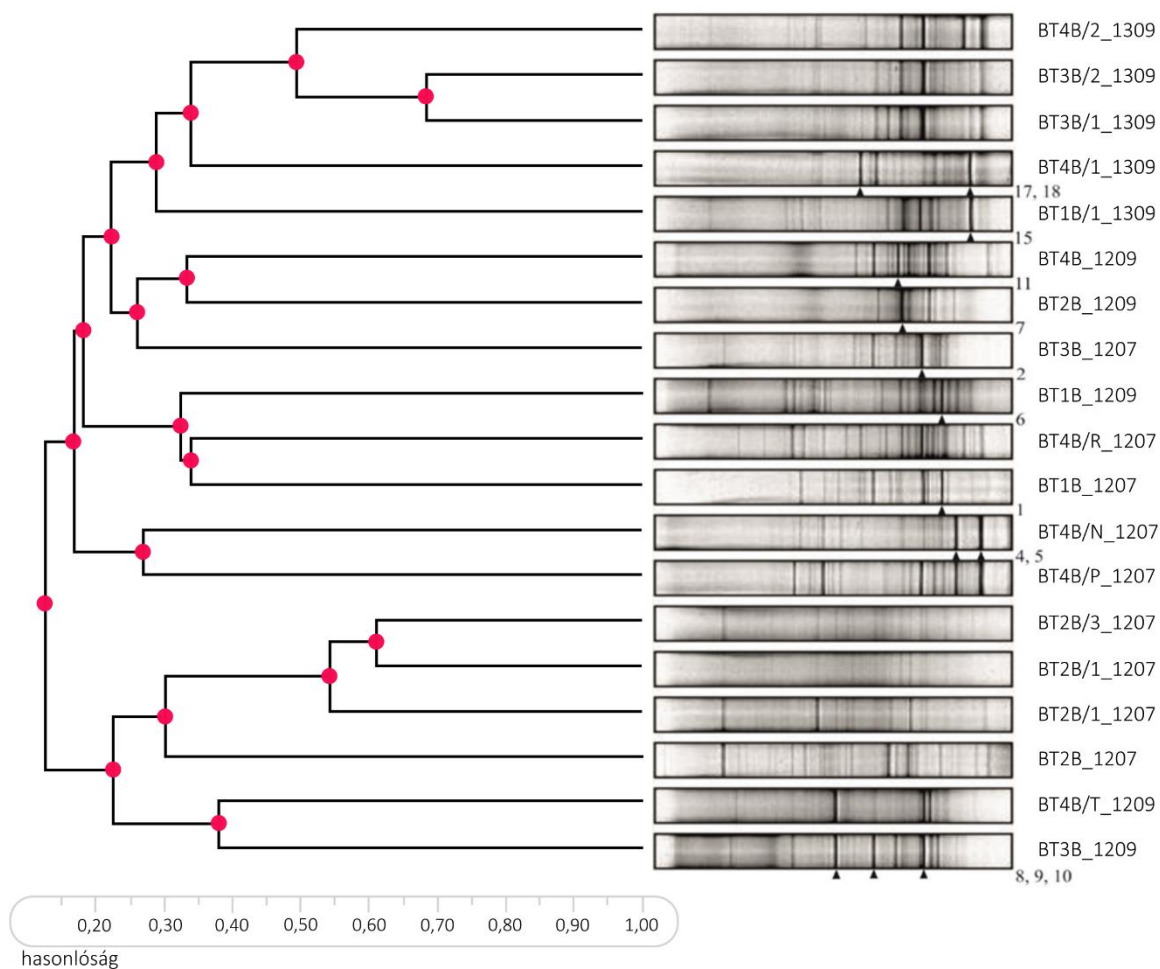
Az üledékmintákból származó baktériumközösségek esetében (5.6-os ábra) a legnagyobb hasonlóságokat az BT2S és a BT3S minták esetében lehetett megfigyelni 2013 júliusában és szeptemberében, valamint 2012 márciusában. A legnagyobb elkülönülést az első (12.03) és az

utolsó (13.09) BT1S minták mutatták; a többi négy külön klaszterbe csoportosult. Hasonló trend a BT3S és a BT4S szeptemberi minták esetében is megfigyelhető volt 2012-ben.



5.6 ábra – A Barex tározótó rendszerből 2012-ben és 2013-ban gyűjtött üledékminták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram. A fekete nyilak a kivágott csíkokat jelölik, a mellette lévő számok pedig az egyedi csíkok azonosítására szolgálnak (ezekről információt a Függelék 4. táblázata szolgáltat). A dendrogram alatti beosztás a hasonlóság mértékét adja meg (0,00 - nincs egyezés, 1,00 – teljes azonosság).

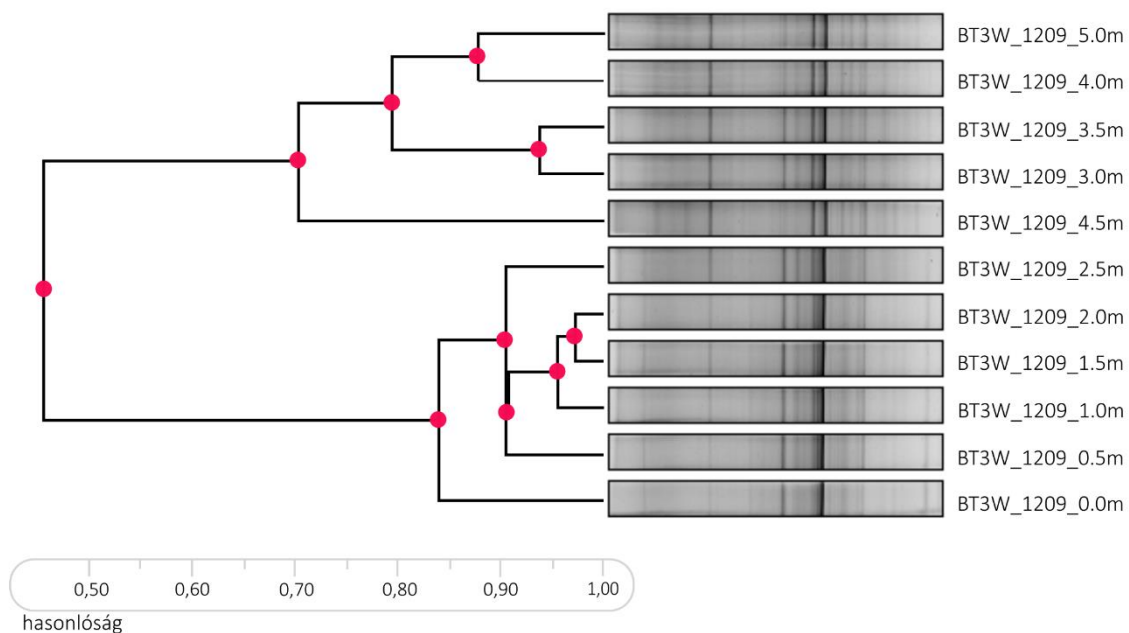
A biofilm minták esetében a közösségszerkezetek változásában szerepet játszott a szezonális, mely évenként is változott az eltérő időjárási viszonyok hatására, viszont a mintavételi hely is közrejátszott, amikor az azonos tóból vett mintákat hasonlítottuk össze, azonos időpontból. A 5.7-es ábrán látható UPGMA dendrogram alapján két nagyobb csoport különült el, 0,12-es hasonlósági érték mellett. A BT3B minták baktériumközösségei 2013 szeptemberéből mutatták



5.7 ábra – A Barex tározótó rendszerből 2012-ben és 2013-ban gyűjtött biofilmminták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram. A fekete nyilak a kivágott csíkokat jelölik, a mellette lévő számok pedig az egyedi csíkok azonosítására szolgálnak (ezekről információt a Függelék 4. táblázata szolgáltat). A dendrogram alatti beosztás a hasonlóság mértékét adja meg (0,00 - nincs egyezés, 1,00 – teljes azonosság).

egymással a legmagasabb egyezést, valamint ebből a mintavételi időpontból származó legtöbb minta alkotta az egyik nagyobb csoportot. Ez alól kivételt képeztek a BT2B minták: egymással nagy hasonlóságot mutattak, de egy nagyobb klaszterbe ezek a minták az előző év szeptemberében (BT4B, BT3B) és júliusában (BT2B) vett mintákkal tartoztak, létrehozva a másik nagyobb csoportot. A többi minta baktériumközösségei inkább hasonlítottak az előbbi, mint az utóbbi csoporthoz.

A 2012-es év szeptemberében a BT3-as tó vizéből származó mintákból készült mélységi DGGE szerint a tó vize 2,5 méteres mélység alatti és fölötti zónára tagozódik a baktériumközösségek szerkezete alapján. A hasonlóság mértéke a két csoport között megközelítőleg 45%-os. A 2,5 méter fölötti régióban az 1, az 1,5 és a 2 méterről vett minták szinte teljes azonosságot mutatnak (>96%-os hasonlóság), miközben a felszínhez közelebb jóval változékonyabb a környezet. A 2,5 méter alatti csoportban a 3, és 3,5 méterről vett minták mutatják egymással a legnagyobb egyezést.



5.8 Ábra – A Barex tározórendszerből 2012 szeptemberében gyűjtött mélységi vízminták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram. Az ábra bal alsó sarkában található beosztás a hasonlóság mértékét adja meg (0,00 - nincs egyezés, 1,00 - azonosság).

Az egyedi, kivágott csíkok DNS-ének megsokszorozása és bázissorrend elemzése 28 különböző OTU-t (Operational Taxonomic Unit – operatív taxonómiai egység) eredményezett; ezek közül kilencet tudunk faji szinten is leírt szervezetekként azonosítani (amennyiben a szekvencia egyezés nagyobb volt, mint 97%) (Függelék 4. táblázat).

Az *Arthrospira* nemzetség képviselőit korábban fénymikroszkóppal is megfigyeltük a vízmintákban, jelenlétüket mind a három mintatípusban igazoltuk DGGE-vel, valamint a genusz a tározási időszakban folyamatosan nyomonkövethető volt (5.5; 5.6; 5.7 ábrák). Egy másik cianobaktérium fajjal, az *Anabaenopsis elenkiniivel* rokon szekvenciát is kimutattunk a tórendszer víz és üledékmintáiból. A vízminták DGGE mintázata alapján (5.5 ábra) a csíkok, melyek az *Anabaenopsis* nemzetséggel voltak megfeleltethetőek főként a szeptemberi tóvízmintákra voltak

jellemzőek, de a BT1-es tóban márciusban is valamint az üledékmintákban is előfordultak (5.6 ábra).

A *Hydrogenophaga* nemzetség tagjai szintén mindegyik mintatípusban jelen voltak. Az üledék- és vízmintákból származó szekvenciáink a legnagyobb hasonlóságot a *H. taeniospiralis* fakultatív kemolito-autotróf baktériumfajjal mutatták, melynek jelenlétét a tenyésztési vizsgálataink is igazolták (Lalucat, Pares, and Schlegel 1982; A. Willems et al. 1989). Az e fajjal rokon OTU tavasszal volt a legjellemzőbb a vizekben és az üledékmintákban mindkét évben, és mindegyik tározótóban. A biofilm mintákból (2012 szeptemberében a BT1-es tóból) származó szekvencia a legnagyobb egyezést a *Hydrogenophaga bisanensis* fajjal mutatta (Yoon et al. 2008).

A *Pseudorhodobacter* genust kizárólag a 2013 márciusában vett vízmintákból azonosítottuk, jelenléte valószínűsíthetően a márciusi belvizet követő túleeresztés és újrafeltöltés közösségátalakító hatásának köszönhető.

DGGE-vel azonosítottunk 5 taxont, melyek jelenléte kizárólag a biofilm mintákban volt igazolható. A Planctomycetaceae és Fusobacteriaceae család képviselőit csak a BT3-as és BT4-es tó biofilmjéből mutattuk ki, a halotoleráns *Loktanella* nemzetség tagjai sporadikusan voltak jelen a biofilm mintákban. A szintén halotoleráns *Paracoccus*ok a BT1-es tó biofilmjére voltak jellemzőek, míg a *Curvibacter* nemzetséget csak egy 2012 szeptemberi BT4-es biofilmből azonosítottuk.

A befolyó csurgalékvízre csak egy a Deferribacteraceae családba tartozó filotípus volt jellemző, mely egy taiwani hévforrásból izolált baktériummal mutatott szekvencia azonosságot (Mochimaru és mtsai 2007).

5.5 A molekuláris klóntárak feldolgozásának eredményei

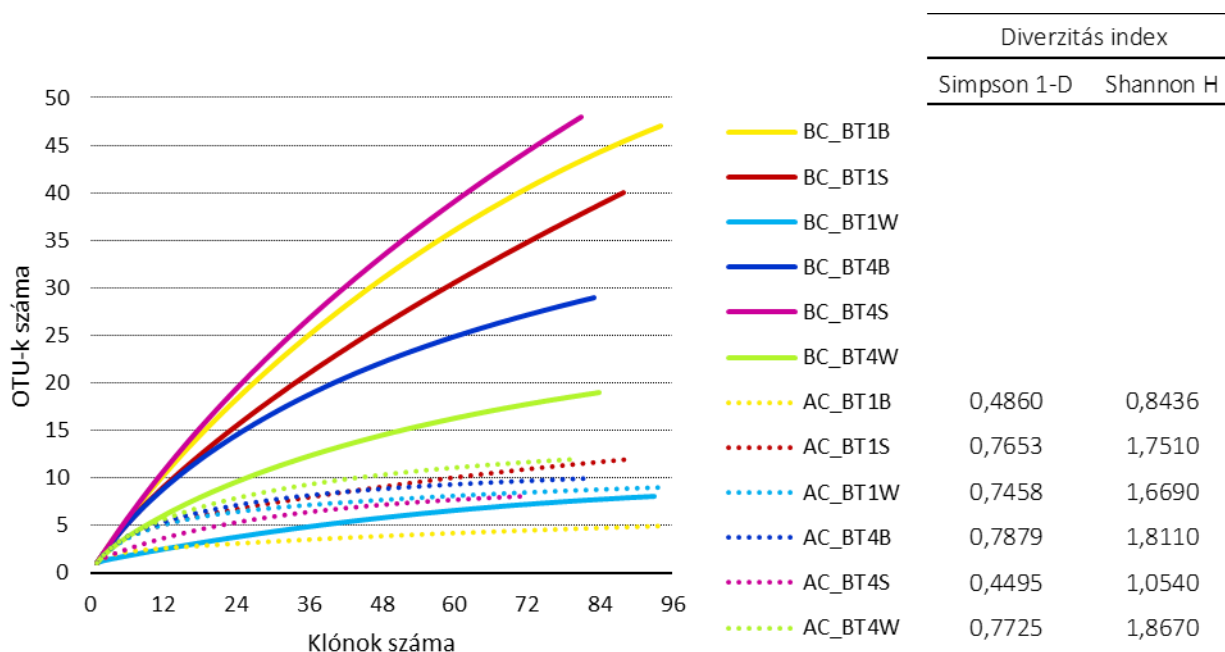
Vizsgálataink során a 2012 szeptemberében vett mintákból összesen 12, egyenként 96-tagú molekuláris klóntárat létesítettünk; ebből 6 Archaea, 6 pedig Bacteria primerekkel készült. Mindkét prokarióta domain esetében a BT1-es és a BT4-es tó vizét (W - water), üledékét (S - sediment) és biofilmjét (B - biofilm) vontuk be a vizsgálatokba. A molekuláris klónok ARDRA módszerrel kiválasztott csoportrepresentánsainak 16S rRNS gén bázissorrendjét meghatároztuk annak érdekében, hogy információt kapjunk azok taxonómiai hovatartozásáról. A molekuláris klónozás során egyik esetben sem sikerült mind a 96 egyedi molekuláris klónból hasznos információt nyerni, mivel előfordult hogy a molekuláris klónozás közben két, vagy több egyedi 16S rRNS gén szekvencia került a plazmidot felvevő *E. coli* sejtbe, és így értékelhetetlen, ún. kiméra szekvenciát kaptunk. Egy másik probléma abból adódott, hogy a DNS izolálás utáni 16S rRNS

génszakaszt felszaporító első PCR reakció során eukarióták plasztisz DNS-e vagy ritkán a plazmidot hordozó *E. coli* sejt saját 16S rRNS génszakasza is megsokszorozódott, mely a molekuláris klónozás során bekerült a reprezentáns molekuláris klónok közé. A szekvenciák azonosítása során ezeket az OTU-kat kizártuk az értékelésből. Az is előfordult, hogy egy szekvenálásra váró minor (1-2 klónt tartalmazó) ARDRA-csoport képviselőjét már nem tudtuk felszaporítani, így annak bázissorrend elemzésére nem került sor. A molekuláris klóntárakra vonatkozó adatok a Függelék 5. és 6. táblázataiban találhatók meg.

5.5.1 A molekuláris klóntárak alfa-diverzitása

Általánosságban elmondható, hogy az Archaea molekuláris klóntárakban jóval kevesebb ARDRA csoport volt jelen mint a Bacteria molekuláris klóntárakban, valamint az is, hogy a vízmintákból készült molekuláris klóntárak sokkal kevesebb ARDRA-csoportot tartalmaztak, mint az üledék- és biofilmmintákból készültek. Ez utóbbi eredmény összecseng a tenyésztés vizsgálataink eredményeivel, valamint a DGGE elemzésekkel is. A legtöbb ARDRA csoportot a BC_BT4S molekuláris klóntárból különítettük el, a szekvenciák elillesztése után is innen került ki a legtöbb különböző OTU. A legkevesebb csoport az AC_BT1W molekuláris klóntárban volt jelen, de a legkevesebb OTU-t (vagy környezeti molekuláris klónt) az AC_BT1B-ben találtuk.

A különböző minták elemzésével feltárt fajgazdagságot fajtelítődési görbéken ábrázoltuk (5.9 ábra). A görbék melletti táblázat az arcaeális klóntárak esetében a Simpson 1-D és a Shannon H diverzitás indexeket szemlélteti. Mindkét diverzitásindex számításba veszi nem csak a fajgazdagságot, de a relatív abundanciát és az egyenletességet (evenness) is.



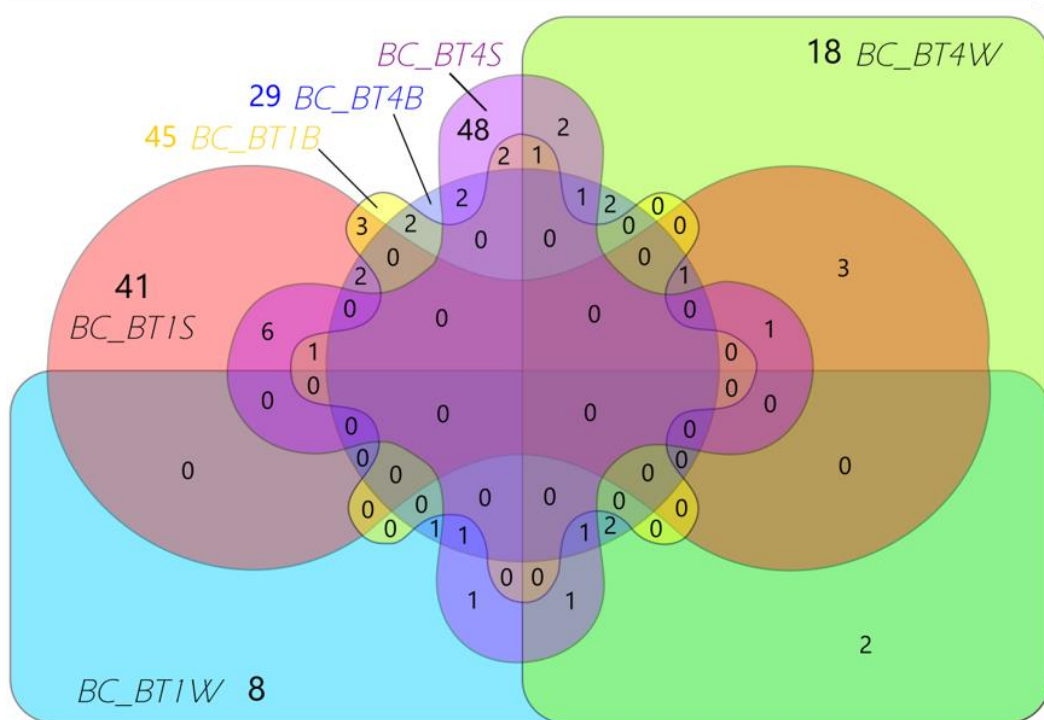
5.9 ábra – A bakteriális és archaeális klóntárak fajtelítődési görbéi együtt ábrázolva. Az ábra jobb oldalán az archaeális klóntárak esetében az alfadiverzitás Simpson 1-D és Shannon H indexei találhatók. A minták rövidítésének feloldását a 4.12 táblázat szemlélteti

A Bacteria molekuláris klóntárak fajtelítődési görbéje (5.9 ábra) alapján megállapítható, hogy a 96-tagú molekuláris klóntárral nem jutottunk el a teljes diverzitás feltárásának közelébe. A BC_BT1W minta görbéjével ellentétben, mely alacsony fajgazdagsága miatt már 96-os mintaszámnál telítődött, a többi görbe messze elmaradt ettől, tehát ezekben több molekuláris klón elemzésével nagyobb fajgazdagságot tárhattunk volna föl. Az alacsony felbontásból eredően diverzitásindexek számolása ezen klóntárak esetében nem volt célszerű.

Az Archaea molekuláris klóntárak diverzitásértékei és fajtelítődési görbéi (5.9 ábra) igencsak különböztek a Bacteria molekuláris klóntárakétól. Leginkább a BC_BT1W-re hasonlítottak, mivel kevés OTU volt bennük, és mindegyik görbe megközelítette az aszimptotát. Az AC_BT1W minta itt is kevésbé diverznek bizonyult, viszont az AC_BT1B még ennél is alacsonyabb diverzitást mutatott: 96 molekuláris klónból 95-ből nyertünk ki információt, mégis csak 5 OTU-t tudunk ebből a mintából azonosítani. Az AC_BT4S is a kevésbé diverz minták közé tartozott, bár ennél a molekuláris klóntárnál torzító hatása lehetett annak, hogy a feldolgozás során igen sok minor (1-2 klónt tartalmazó) ARDRA csoportot nem sikerült újra amplifikálni, így az az információ elveszett.

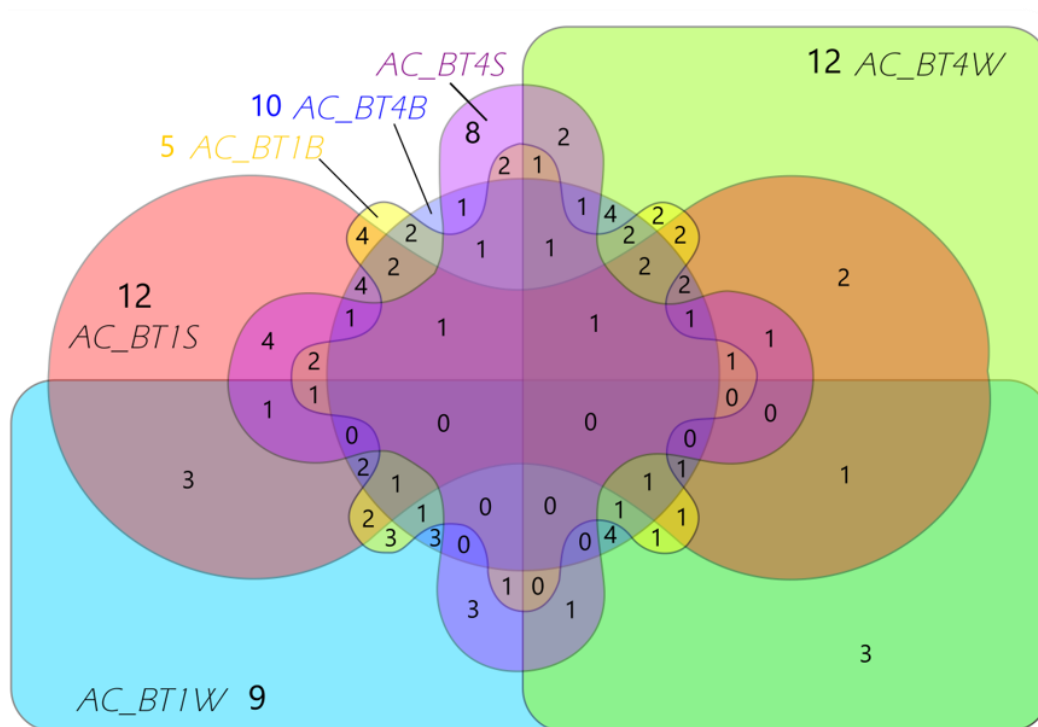
5.5.2 A molekuláris klóntárak béta-diverzitása

Eredményeink grafikus megjelenítése végett a különböző mintatípusokban jelen lévő OTU-k számát és azok megoszlását a mintatípusok között 6-tagú Venn diagramokon ábrázoltuk. A



5.10 ábra - A Bacteria molekuláris klóntárak OTU-inak megoszlása a mintatípusok között 6-tagú Venn-diagramon ábrázolva.

Bacteria molekuláris klóntárak OTU-i között igen csekély volt az átfedés. A legnagyobb fokú egyezést a két vizsgált vízminta molekuláris klóntárai mutatták, de három olyan mintapár is volt, melyek között egyetlen OTU egyezést sem találtunk; a BC_BT1W és BC_BT1B, a BC_BT1W és BC_BT1S, valamint a BC_BT4W és a BC_BT1B. A Venn diagramon (5.10 ábra) látható, hogy csak egy olyan OTU-t tudtunk kimutatni, mely a 6 molekuláris klóntár közül minimum négyben jelen volt; ez az *Arthrospira indica* nevű cianobaktérium volt, mely főleg a vízmintákban volt domináns. Három olyan OTU-t azonosítottunk, mely legalább 3 molekuláris klóntárban jelen volt; a *Hydrogenophaga flava* a BC_BT1S, BC_BT4S és BC_BT4W mintákból volt kimutatható, a *Glycoaulis abyssi* a BC_BT1S, BC_BT4B és BC_BT4W molekuláris klóntárakban szerepelt, míg egy *Azoarcus* nemzetségbe tartozó környezeti klónhoz hasonló szekvenciákat a BC_BT1B, BC_BT1S és BC_BT4S molekuláris klóntárakból is kimutattunk. Diverzitásindexeket a bakteriális klónkönyvtárakból a feltételezett fajgazdagsághoz képest túl alacsony mintaszám miatt (5.9 ábra) nem számoltunk.



	AC_BT1B	AC_BT1S	AC_BT1W	AC_BT4B	AC_BT4S	AC_BT4W
AC_BT1B	0	0,52941	0,57143	0,73333	0,69231	0,76471
AC_BT1S		0	0,71429	0,63636	0,6	0,83333
AC_BT1W			0	0,68421	0,64706	0,71429
AC_BT4B				0	0,88889	0,63636
AC_BT4S					0	0,8
AC_BT4W						0

5.11 ábra - Az Archaea molekuláris klóntárak OTU-inak megoszlása a mintatípusok között 6-tagú Venn-diagramon ábrázolva. Az ábra alján a páronkénti Whittaker-Sørensen-féle bétadiverzitás indexek találhatók.

Az vizsgált minták Archaea közösségei nagyobb hasonlóságot mutattak egymással, mint a Bacteria közösségek, ez annak is köszönhető, hogy ebben az esetben a fajtelitődési görbék elérték a plató szakaszt. (5.11 ábra). Az AC_BT1S és az AC_BT1B minták diverzitás indexe volt a vizsgált mintapárok közül a legalacsonyabb; 0,53-es értékkel. A két molekuláris klóntár 4 OTU-n osztozott. Az AC_BT1W és AC_BT1B minták diverzitása szintén alacsony volt (0,57), ezekben a mintákban 3 közös OTU fordult elő. A több, mint két mintában jelen lévő OTU-k aránya is sokkal nagyobb volt az ősbaktériumok esetében; két olyan fajt is sikerült kimutatnunk, mely a 6 minta közül 5-ben jelen volt. A *Methanocalculus natronophilus* az AC_BT1B, AC_BT1S, AC_BT4B, AC_BT4S és AC_BT4W mintákban is előfordult, a *Methanosaeta harundinacea*-hoz hasonló szekvenciákat az AC_BT1B, AC_BT1S, AC_BT1W, AC_BT4B és AC_BT4W molekuláris klóntárakból mutattunk ki. A

Methanocalculus pumilus ősbaktérium 4 mintában volt jelen; az AC_BT1B-ben, az AC_BT1S-ben, az AC_BT1W-ben és az AC_BT4S-ben.

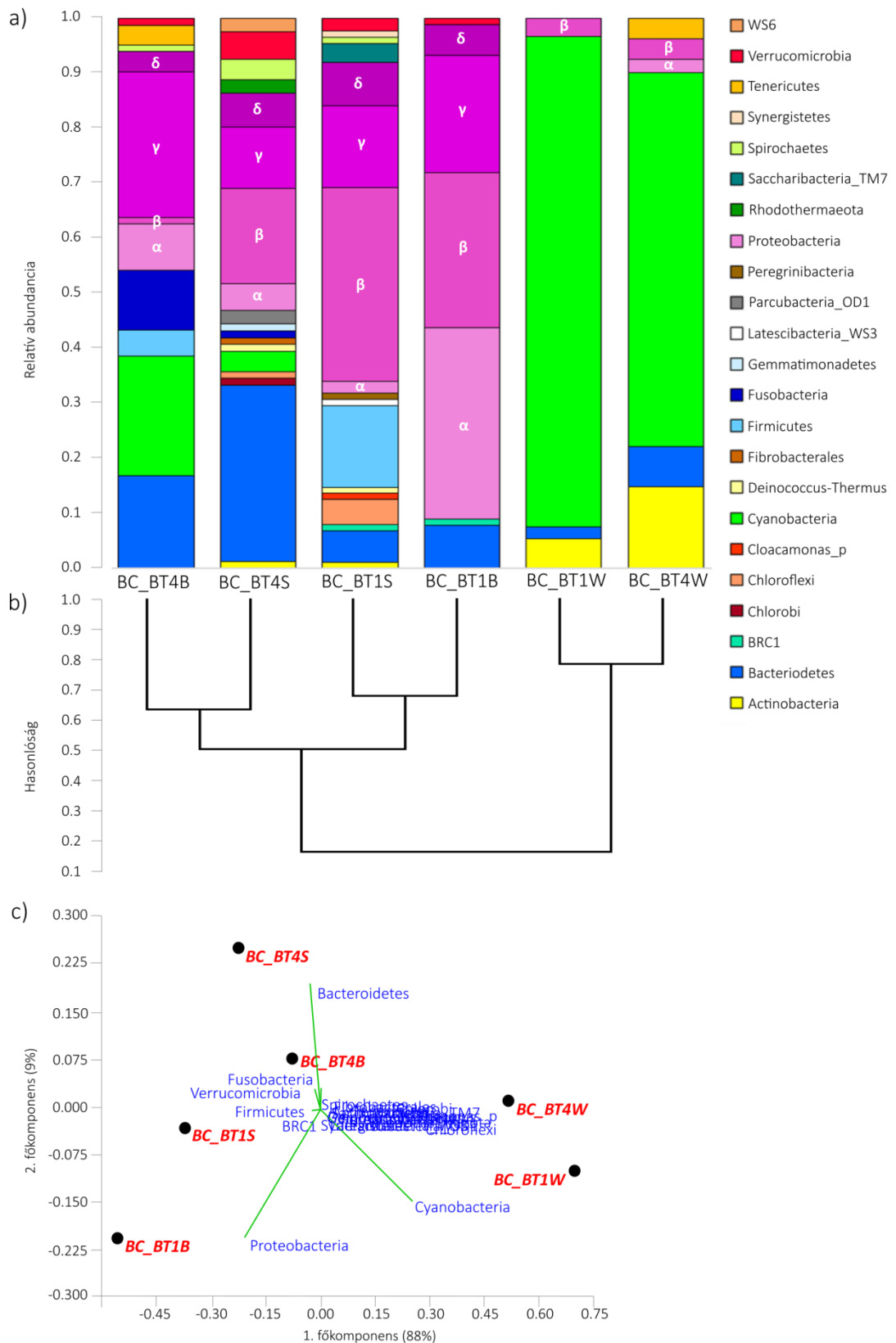
5.5.3 A molekuláris klóntárak taxonómiai diverzitása

A molekuláris klóntárakból az összes vizsgált mintát figyelembe véve összesen 23 Bacteria, míg csak 3 Archaea törzs; az Euryarcheota, a Thaumarcheota és a Bathyarcheota képviselőit azonosítottuk.

5.5.3.1 A Bacteria molekuláris klóntárak taxonómiai diverzitása

A Bacteria molekuláris klóntárakban a Proteobacteria törzs tagjai dominálták az üledék és a biofilm mintákat, míg a vízmintákban a Cyanobacteria volt jellemző. Az előzőkön kívül jelentős közösségalkotóknak bizonyultak a Bacteroidetes, az Actinobacteria és a Firmicutes törzsek tagjai is (5.12 ábra).

Összevesszük az alfadiverzitás értékekkel a vízmintákból feltárt törzsek száma: a BC_BT1W-ből 4 törzs jelenlétét tudtuk kimutatni. Ezek közül a Cyanobacteria volt a leggyakoribb, 0,89-es relatív abundanciával. Emellett előfordultak a mintában az Actinobacteria, a Bacteroidetes és a Proteobacteria törzsek tagjai is, utóbbiból csak a Betaproteobacteria osztály képviselőit azonosítottuk. A BC_BT4W minta törzseinek megoszlása hasonlóképp alakult, bár ebben a mintában az előzőleg említett taxonokon felül jelen voltak a Firmicutes törzs és a Proteobacteria törzsön belül a Alphaproteobacteria osztály képviselői is.



5.12 ábra - a) Bacteria molekuláris klóntárak elemzése: a Barex tórendszerből származó tóvíz, üledék és biofilm mintákból származó molekuláris klónok törzsek szerinti megoszlása. b) A mintákat a kimutatott filogenetikai törzsek alapján csoportosítottuk; a minták Bray-Curtis indexe alapján építettünk UPGMA dendrogramot. c) A tórendszerből vett minták főkomponens analízisen alapuló biplot ábrája törzs szinten

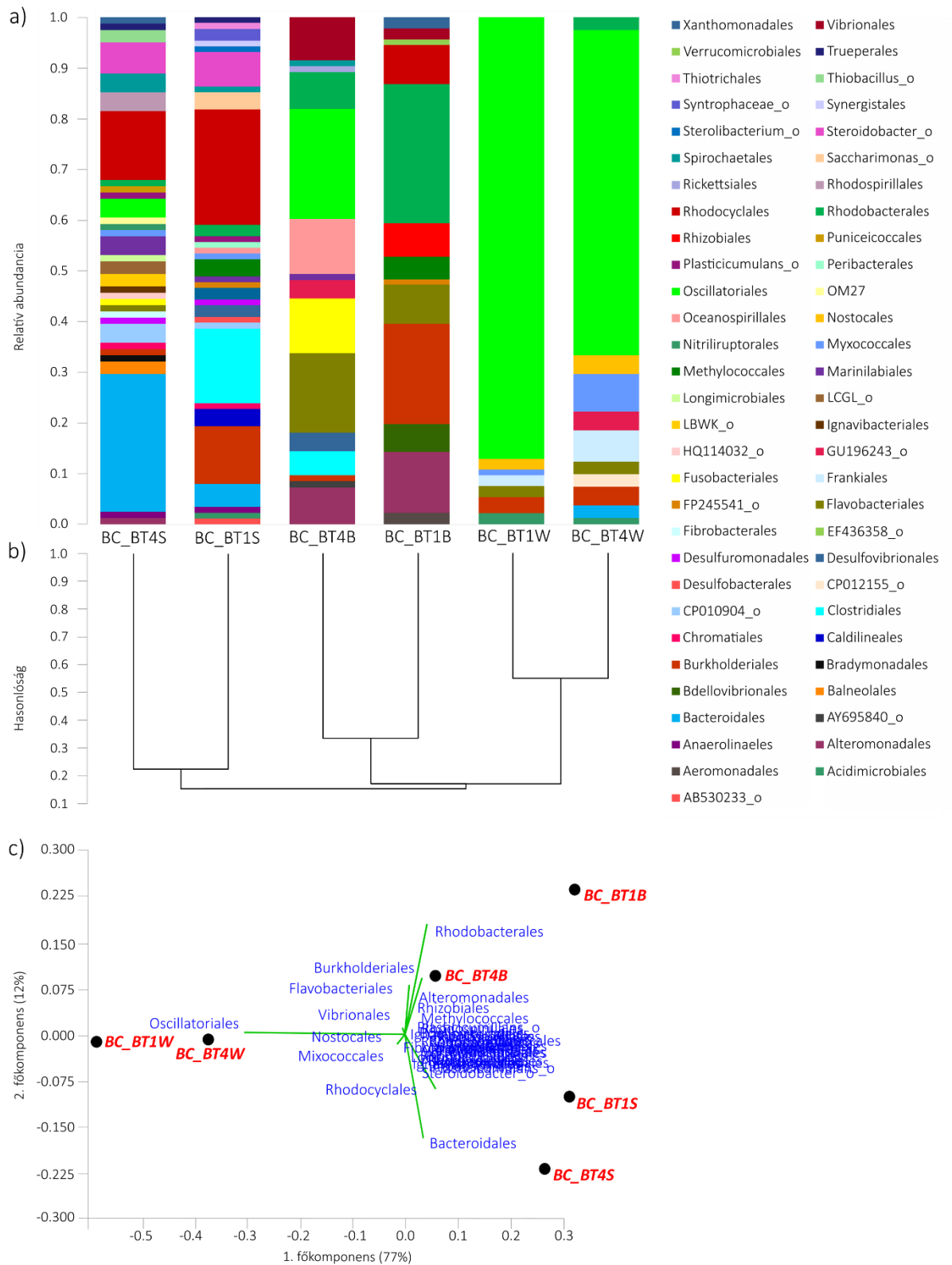
A biofilm minták baktériumközösségei a filogenetikai törzsek szintjén nagy különbségeket mutattak. A vízminták egymással képeztek csoportot (5.12b ábra), mivel a tározórendszer vize a kiegyenlítődékes feltöltődésnek köszönhetően hasonló eloszlást mutatott. A biofilm és az üledékminták ugyanakkor tavanként csoportosultak; itt jelentősebbek voltak a mintatípusok közti, mint a két hely közötti a különbségek. A BC_BT1B mintában csupán 4 törzs jelenlétét igazoltuk, ezek közül is a Proteobacteria törzs volt a legabundánsabb 0,9-es relatív abundanciával. Emellett nagyobb arányban (0,08) jelen voltak még a Bacteroidetes törzs képviselői, valamint kimutatható számban találtunk szekvenciákat a BCR1 és a Verrucomicrobia törzsekből is. A BC_BT4B minta törzsek alapján a BT4-es tó üledékével mutatta a legnagyobb egyezést. A proteobaktériumok itt is domináltak, bár jóval egyenletesebb megoszlásban, mint a BT1-es minta biofilmjében, emellett szintén jelen volt az Actinobacteria törzs is, nagyobb relatív abundanciával, mint az első tó biofilmjében. Megjelentek a Cyanobacteria, a Fusobacteria és a Firmicutes törzsek képviselői is. A Verrucomicrobia törzs képviselőinek aránya az előző mintához képest nem változott, viszont kimutattuk a Tenericutes és Spirochaetes törzs tagjaihoz tartozó szekvenciákat is. Miközben adja magát a lehetőség, hogy a biofilm minták baktériumközösségei közti különbséget a víz folyásirányának megegyezően – mintegy grádiens mentén – elemezzük, fontos megjegyezni, hogy a DGGE vizsgálatainkkal feltárt biofilm minták baktériumközösségei között nehéz volt hasonlóságokat megállapítani és valószínű, hogy a térbeli különbség ezeket a mintákat érinthette leginkább. Tehát egy tapon belül két biofilm minta között nagyobb különbségek lehetnek, mint egy biofilm minta és egy másik tó eltérő mintatípusa között.

A törzsekre alapozott legnagyobb divezitást az üledékmintákból tártuk fel. A BC_BT1S mintában 14, a BC_BT4S-ben 15 filogenetikai törzs jelenlétét igazoltuk. A BT1-es tó üledékében szintén a Proteobacteria törzs volt a leggyakoribb előfordulású, 0,6-os relatív abundanciával. Emellett jelentősebb volt még a Firmicutes törzs (0,15) és a Bacteroidetes törzs (0,06) tagjainak jelenléte is. Az egész tórendszerből csak ebből a mintából tudtuk kimutatni a Saccharibacteria_TM7, a Synergistetes, a Peregrinibacteria, a Latescibacteria_WS3 és a Cloacamonas törzsek képviselőit. A BC_BT4S molekuláris klóntár uralkodó törzse szintén a Proteobacteria törzs volt, ám itt kisebb (0,4-es) relatív abundanciával és nagyobb számban szerepeltek a Bacteroidetes törzs képviselői (0,32). A Chlorobi, a Fibrobacteres, a Gemmatimonadetes, a Rhodothermaeota, a WS6 és a Parcubacteria_OD1 törzsek képviselőit az egész tórendszerből csak ebből a mintából izoláltuk. A Chloroflexi, Deinococcus-Thermus törzsek képviselői mindkét üledékmintából kimutathatók voltak, ám a többi mintatípusban nem szerepeltek.

Észrevételeinket megerősítette a tőrendszerből vett minták főkomponens analízisen alapuló ordinációs diagramja is (5.12c ábra). Az elemzés során a 6 mintavételi hely szolgált objektumként, az egyes törzsek pedig változókként. Az eredmények alapján szerkesztett biplot ábrán az első főkomponens mentén a vízminták elkülönültek a biofilm és az üledék mintáktól. Az elválásban a Cyanobacteria törzs játszott a legnagyobb szerepet. A második főkomponens mentén a különböző minták megoszlása viszonylag egységes volt, leginkább elkülönülők a BC_BT1B minta bizonyult, melyet a Proteobacteria törzs befolyásolt, mely ebben a mintában túlnyomóan domináns volt, valamint a BC_BT4S minta, mely a Bacteroidetes törzs dominanciája miatt bizonyult különbözőbbnek.

A Bacteria molekuláris klóntárak rend szintű elemzése során (5.13 ábra) a vízminták egy csoportot alkottak a Bray-Curtis hasonlóság alapján, viszont az üledék és a biofilm minták mintatípusonként csoportosultak. A BC_BT1W és A BC_BT4W mintákban a cianobaktériumok közül az Oscillatoriales rend tagja voltak túlnyomó többségben, bár kisebb számban a Nostocales rend képviselői is előfordultak. Az előbbi csoport a BC_BT4B mintában is szép számmal képviseltette magát, mely 0,22 relatív abundanciával a minta legdominánsabb filogenetikai rendje volt, ám az utóbbi rend csak a vízmintákból került kimutatásra. Kis relatív abundanciával (0,04) kimutattuk Oscillatoriales rendbe tartozó 16S rDNS szekvenciákat a BC_BT4S mintából is. Mindkét vízmintában jelen volt a deltaproteobaktériumok Myxococcales rendje, a BT4-es tóban nagyobb relatív abundanciával, mint a BT1-ben. Ez a rend alacsony szekvencia számmal jelen volt az üledékmintákból készült molekuláris klóntárakban is, viszont a biofilm mintákból nem tudtuk kimutatni. Kizárólag a vízmintákban fordultak elő a Frankiales (Actinobacteria) rend tagjai, valamint a CP012155_o rend képviselői csak a BC_BT4W mintában voltak jelen.

A biofilm mintákra jellemző rendek megoszlása sokkal egyenletesebb volt a törzsekéhez képest; a Proteobacteria phylumba tartozó szekvenciák mindkét biofilm minta esetében megoszlottak a rendek között. Burkholderiales (Betaproteobacteria) rendbe sorolható szekvenciák az összes vizsgált minta molekuláris klóntárjából kimutathatóak voltak, ám a BT1-es tó biofilmjében érte el ez a rend a legnagyobb relatív abundanciát (0,20). A minta leggyakoribb taxonjának azonban a Rhodobacterales rend (0,28) bizonyult. További jelentősebb közösségalkotók az Alteromonadales (0,12) és a Rhodocyclales (0,08) rendek voltak. Kizárólag a BC_BT1B molekuláris klóntárból tudtuk igazolni a Rhizobiales (Alphaproteobacteria),



5.13 ábra - a) Bacteria molekuláris klóntárak elemzése: a Bares tórendszerből származó tóvíz, üledék és biofilm mintákból származó molekuláris klónok rendek szerinti megoszlása. b) A mintákat a bennük jelen lévő filogenetikai rendek alapján csoportosítottuk; az UPGMA dendrogramot Bray-Curtis hasonlósági index alapján szerkesztettük. c) A tórendszerből vett minták főkomponens analízisen alapuló biplot ábrája ordo szinten

Bdellovibrionales (Deltaproteobacteria), az Aeromonadales (Gammaproteobacteria) és a Verrucomicrobiales (Verrucomicrobia) rendek jelenlétét. A BC_BT4B minta rendkívül egyenletes rend-szintű eloszlásából kevéssel tűnt ki dominanciában a már tárgyalt Oscillatoriales csoport, a Fusobacteriales (Fusobacteria), Flavobacteriales (Bacteroidetes), valamint az Oceanospirillales (Gammaproteobacteria) rendek. Csak ebben a mintában fordultak elő a Rickettsiales (Alphaproteobacteria) rend képviselői, valamint mindkét biofilm mintára jellemző volt a Vibrionales rend (Gammaproteobacteria) jelenléte, mely más mintatípusokban nem fordult elő.

Az üledékminták bizonyultak a rendek szintjén a legdiverzebbnek; a BC_BT1S mintából 30, a BC_BT4S-ből 32 rend jelenléte volt bizonyítható. Miközben Bray-Curtis azonosság alapján ezek a minták egymással képeztek csoportot, a hasonlóság nagyon alacsony, csupán 22% körül alakult. 14 rend fordult elő, mely mindkét üledékmintában szerepelt, viszont 10 rend jelenléte volt csak a BC_BT1S, és 13 csak a BC_BT4S mintára jellemző, mely a legtávolabb helyezte az üledékmintákat a többi mintatípustól. A BC_BT1S minta legabundánsabb közösségalkotója a Rhodocyclales (Betaproteobacteria) rend volt 0,23-as értékkel. Jelentősebb rendek voltak még a mintában a Clostridiales (Firmicutes) 0,15-öt elérő relatív abundanciával, valamint Burkholderiales és a Steroidobacter_o rendek is. A BC_BT4S minta legjelentősebb csoportjának ezen a szinten a Bacteroidales (Bacteroidetes) rend bizonyult, melyhez tartozó szekvenciák kitették az összes üledékmintából származó molekuláris klón több, mint 27%-át. A Rhodocyclales rend ebben a mintában is jelen volt (0,13), emellett a Steroidobacter_o rend szerepelt nagyobb abundanciával, mint a többi csoport. Hét filogenetikai rendet azonosítottunk, mely mindkét üledékmintában képviseltette magát, viszont a többi mintatípusban nem volt jelen; a gammaproteobaktérium Plasticicumulans_o, Steroidobacter_o és Chromatiales rendeket, a Desulfuromonadales rendet a Deltaproteobacteria osztályból, a CP010904_o rendet a Verrucomicrobia törzsből, a Trueperales rendet, mely a molekuláris klóntárakkal vizsgált mintákból az egyedüli csoport, mely a Deinococcus-Thermus törzsbe tartozott, valamint az Anaerolineales rendet, a Chloroflexi törzsből.

Megfigyeléseinket alátámasztotta a főrendszerből vett minták főkomponens analízisen alapuló biplotja is (5.13c ábra), melyen a 6 mintavételi hely szolgált objektumként, az egyes rendek pedig változókként. Az első főkomponens mentén a vízminták markánsan elkülönültek a biofilm és az üledék mintáktól, melyben az Oscillatoriales rend játszotta a legnagyobb szerepet. Az első főkomponens mentén vált el a többi mintától a BC_BT4B is, bár nem olyan határozottan, mint a vízminták. E minta elkülönülésében a Rhodobacterales rend játszott szerepet. A második főkomponens mentén elkülönülés leginkább mintatípusonként volt megfigyelhető, melyet az

üledékminták esetén a Bacteroidales, a biofilm minták esetén itt is a Rhodobacterales rendek jelenléte befolyásolt.

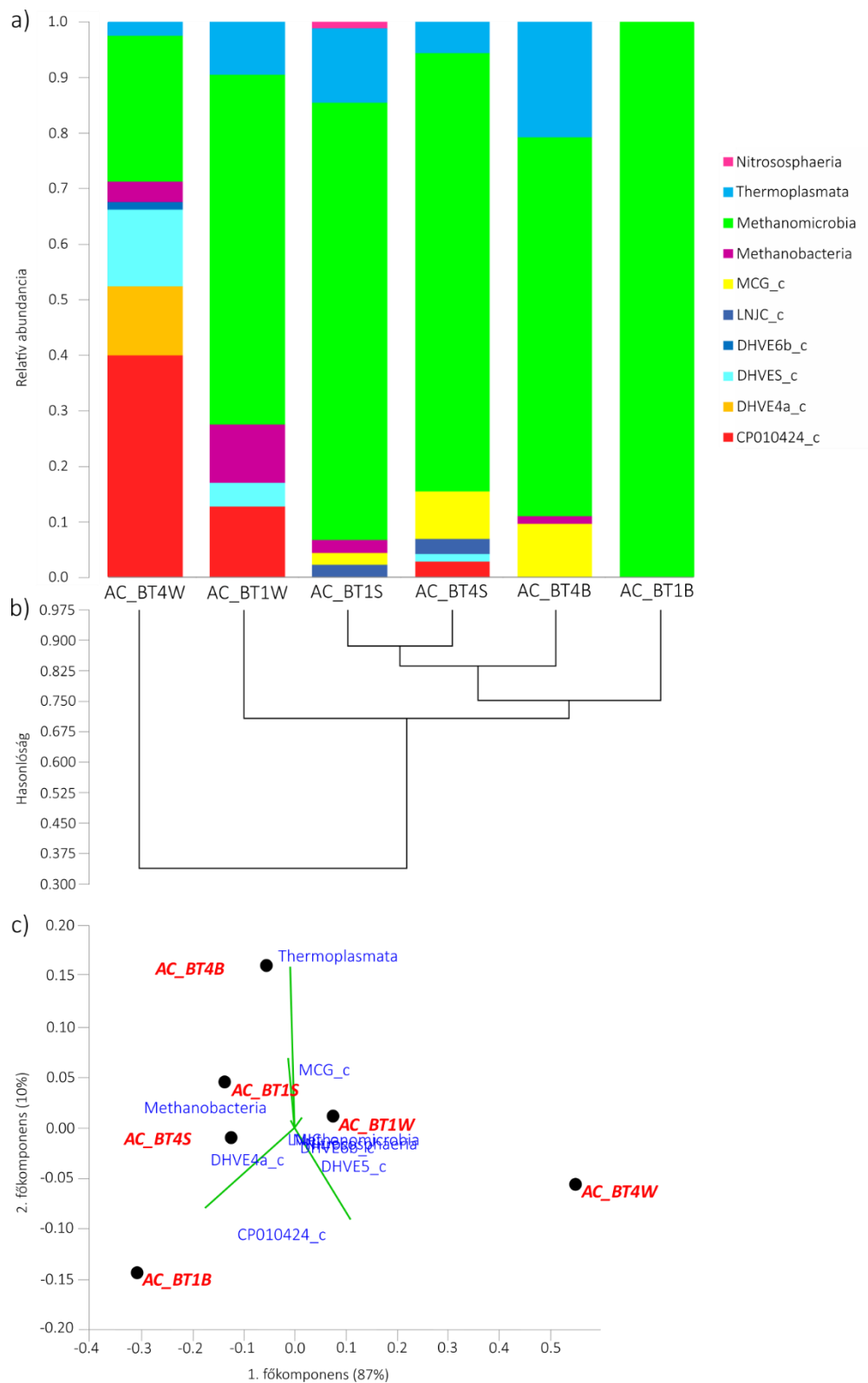
5.5.3.2 Az Archaea molekuláris klóntárak taxonómiai diverzitása

Filogenetikai törzsek szintjén az archaea primerekkel létesített molekuláris klóntárakban három phylum jelenlétét tudtuk igazolni. A szekvenciák túlnyomó többsége az Euryarcheota törzsbe tartozott, de az AC_BT1S mintából sikerült a Thaumarcheota törzs, míg az AC_BT1S, AC_BT4S és AC_BT4B mintákból igen kis arányban a Bathyarcheota törzs képviselőit is kimutatni. Az Archaea törzsekbe sorolt szekvenciák bizonytalan vagy nem azonosítható taxonómiai helyzete miatt úgy döntöttünk, hogy az ősbaktériumok molekuláris klóntárakkal feltárt filogenetikai diverzitását nem tárgyaljuk osztály szintnél mélyebben (5.14 ábra).

Az AC_BT4W molekuláris klóntár kivételével a Methanomicrobia osztály mindegyik mintában domináns volt, olyannyira, hogy az AC_BT1B molekuláris klóntárból nem is jegyeztünk más osztályhoz tartozó szekvenciát (5.14a ábra). Bray-Curtis hasonlóság alapján a két, egymáshoz leginkább hasonlító Archaea molekuláris klóntár a két üledékmintához tartozott (5.14b ábra). A Methanomicrobia osztály dominanciája mellett mindkét mintában képviseltették magukat a Thermoplasmata, a az MCG_c és a LNJC_c osztályok. Az AC_BT1S mintában volt jelen a Nitrososphaeria osztály (0,01), mely az egyetlen Thaumarcheota törzshöz tartozó taxon volt a molekuláris klóntárakkal vizsgált mintákban, valamint a Methanobacteria osztály (0,02) mely a AC_BT4S és AC_BT1B kivételével minden mintában jelen volt. Az AC_BT4S molekuláris klóntárból kimutattuk a CP010424_c és DHVE5_c osztályokat is.

A két biofilm minta nem egymással mutatta a legnagyobb hasonlóságot, hanem az üledékmintákkal; az AC_BT4B a két üledékmintából készült molekuláris klóntárakkal alkotott egy klasztert és ehhez csatlakozott az AC_BT1B is. Az utóbbi, mint már fentebb említettük kizárólag a Methanomicrobia csoport tagjait tartalmazta, miközben ez előbbiben jelen voltak Thermoplasmata (0,21), az MCG_c (0,1) és a Methanobacteria (0,01) osztályok képviselői is.

A két vízminta mutatta egymással a legkisebb egyezést a vizsgált mintákon belül, ennek oka az lehetett, hogy az AC_BT4W volt az egyetlen minta, melyben nem a Methanomicrobia osztály volt domináns, hanem egy CP010424_c nevű csoport, mely egy azonos nevű OTU-ról (CP010424_s)



5.14 ábra - a) Archaea molekuláris klónok elemzése: a Barex tórendszerből származó tóvíz, üledék és biofilm mintákból származó molekuláris klónok osztályok szerinti megoszlása. b) A mintákat a bennük jelen lévő filogenetikai osztályok alapján csoportosítottuk; a minták Bray-Curtis indexe alapján építettünk UPGMA dendrogramot. c) A tórendszerből vett minták főkomponens analízisen alapuló biplot ábrája ordo szinten

kapta a nevét. Az általunk azonosított molekuláris klónok egyike sem mutatott nagyobb egyezést a csoporttal, mint 81% így ezen molekuláris klónok filogenetikai hovatartozása bizonytalan. A mintában ezen kívül jelentősebb osztályként az DHVE5_c csoport szerepelt és kizárólag ebben a mintában voltak megtalálhatók a DHVE4a_c és a DHVE6b_c csoportok tagjai. A AC_BT1W minta az előbbi két kivételtől eltekintve ugyanazokat az osztályokat tartalmazta, mint a AC_BT4W, csak eltérő arányban.

A főkomponens elemzés biplotja alapján (5.14c ábra) az első főkomponens szerint az AC_BT4W különült el a leginkább a többi mintától a CP010424_c csoport jelenléte miatt. Enyhén különvált a többi mintától az AC_BT1B is. A második főkomponens mentén az AC_BT4B molekuláris klóntár bizonyult a legkülönbözőbbnek, melyet a Thermoplasmata osztály befolyásolt.

5.6 A piroszekvenálással végzett közösségfeltárás eredményei

Vizsgálataink során a 2013 júliusában vett mintákból összesen 4 amplikontárat létesítettünk, melyek univerzális primerekkel készültek, a BT1-es és a BT4-es tó vizéből (W - water) és üledékéből (S - sediment). A választott minták piroszekvenálásával az volt a célunk, hogy nagyobb felbontásban ismerjük meg a közösségösszetételt egy nyári időszakban, amikor a mikrobiális aktivitás igen nagy lehetett. (Az amplikontárakkal feltárt baktériumközösség nemzetség-szintű ismertetése, relatív abundanciákkal a Függelék 7. táblázatában található.)

5.6.1 Az amplikontárak alfa-diverzitása

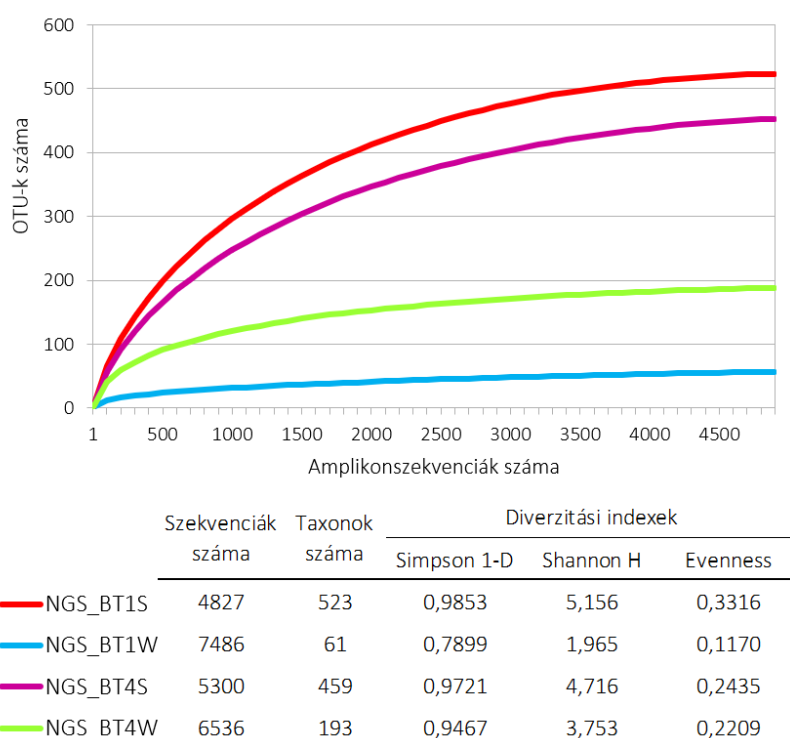
Piroszekvenálással a legtöbb OTU az NGS_BT1S mintából származott, ezt követte az NGS_BT4S minta, miközben a vízmintákból jóval kevesebb taxonómiai egységet tártunk fel. Az NGS_BT4W-ben kevesebb, mint feleannyi közösségalkotó volt jelen, míg a legkevesebbet az NGS_BT1W-ben azonosítottuk.

A különböző minták elemzése által feltárt fajgazdagságot fajtelítődési görbékben ábrázoltuk (5.15 ábra). A görbék melletti táblázat a Simpson 1-D és a Shannon H alfadiverzitás indexeket szemlélteti, melyek számításának háttérét az 4.7.5-ös fejezetben ismertettük.

Az 5.15 ábrán jól látszik, hogy az összes mintából származó amplikontár fajtelítődési görbéi megközelítették az aszimptotát. A vízminták amplikontárai kevésbé voltak diverzek a Simpson 1-D és a Shannon H indexek alapján, mint az üledékmintákból készültek. A négy aplikontár közül három Simpson-diverzitás igen közel állt az 1-es értékhez, ami arra utal, hogy két véletlenszerűen választott aplikon szekvencia nagy valószínűséggel két külön OTU-ba tartozik. A Shannon H

diverzitásértékek is alátámasztják előző megfigyeléseinket; az NGS_BT1S amplikontár bizonyult a legdiverzebbnek, ezt követte az NGS_BT4S mintából készült, majd az NGS_BT4W-es, végül a legalacsonyabb diverzitást az NGS_BT1W mutatta. Ennek az lehet az oka, hogy a BT1-es tó a tározórendszer első tagjaként folyamatos termálvíz utánpótlás alatt állt, ezért itt nem tudott tóvízre jellemző közösség kialakulni, hanem inkább a termálvízre jellemző egyszerűbb közösségszerkezet volt jellemző.

Miközben a BT1-es tó üledékének közössége differenciálódott, a tóvíz folyamatos termális hatásnak volt kitéve az eltérő fajösszetételű és hőmérsékletű befolyóvíz által.

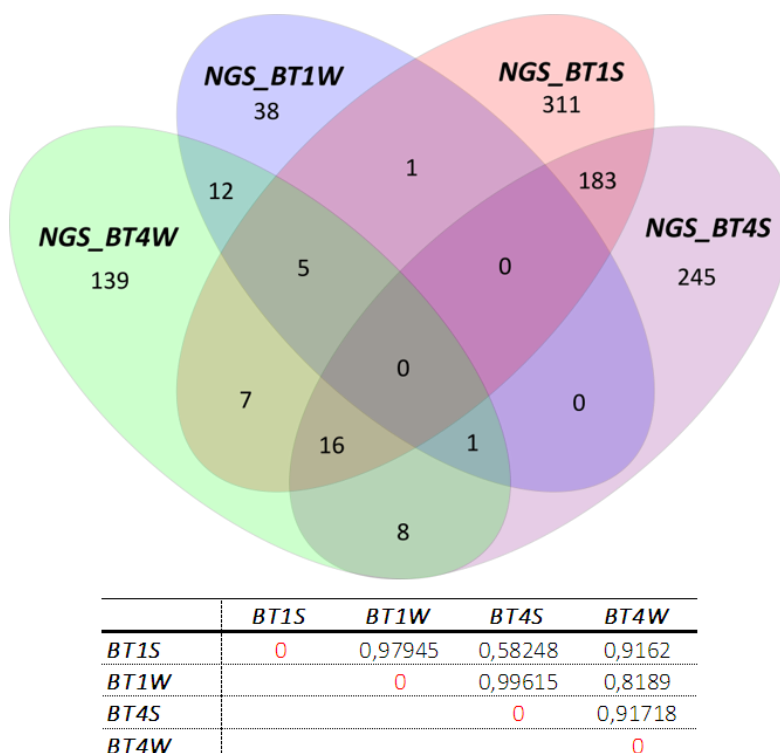


5.15 ábra – Az amplikontárak fajtelítődési görbéi. Az ábra alján az amplikontárak egyedi szekvenciáinak és taxonjainak száma, az alfadiverzitás Simpson 1-D és Shannon H indexei, valamint az Evenness (egyenletesség) értékek találhatók.

5.6.2 Az amplikontárak béta-diverzitása

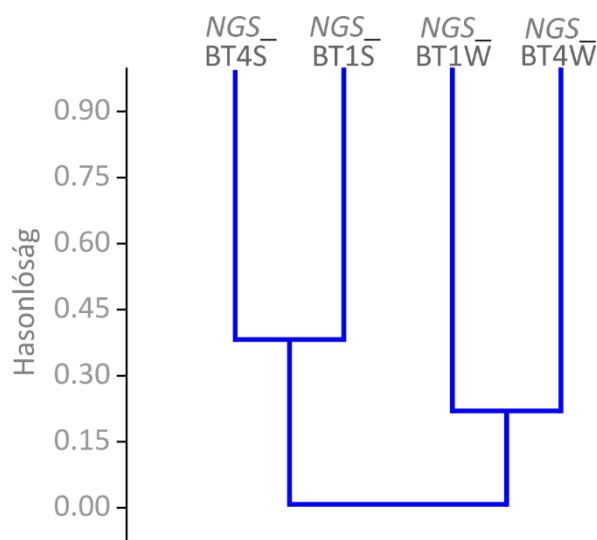
A standardizált béta-diverzitás értékekre alapozva a két üledékminta mutatta egymással a legnagyobb hasonlóságot a két minta összesen 199 OTU-n osztozott (5.16 ábra). A két vízminta béta-diverzitás értéke 0,8 volt, mely a többi mintához képest alacsonyabbnak számított, összesen 18 OTU volt jelen mind a két mintában. A víz és üledék minták igen nagyfokú különbséget mutattak; az NGS_BT1W és a két üledékmintából készült amplikontár összehasonlítása 0,98-as fölötti

bétadiverzitás indexeket eredményezett, míg az NGS_BT4W összehasonlítása a két üledékmintával 0,92 körül alakult, mely alig volt csak alacsonyabb.



5.16 ábra – Az amplikontárak OTU-inak megoszlása a mintatípusok között 4-tagú Venn-diagramon ábrázolva. Az ábra alján a páronkénti Whittaker-Sørensen-féle bétadiverzitás indexek találhatóak

Az aplikontárak OTU-ira alapozva Bray-Curtis hasonlósági dendrogramot is szerkesztettünk (5.17 ábra). Ez alapján a két mintatípus külön klasztereket képezett. Ezen belül is az üledékminták mutattak egymással nagyobb hasonlóságot, ahogy azt az előbbi megfigyeléseink is alátámasztják. A két vízminta hasonlóságának mértéke kisebb volt.



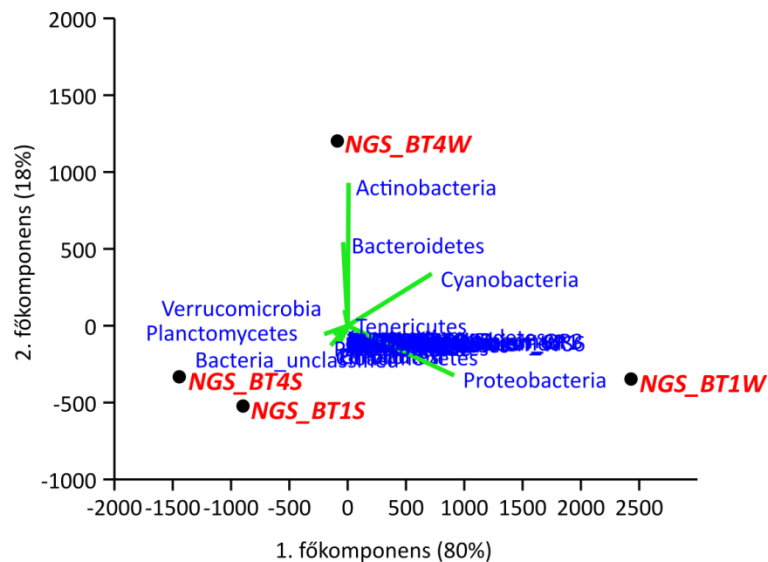
5.17 ábra – Bray-Curtis alapú hasonlósági dendrogram, mely az amplikontárak OTU-i szerint készült

5.6.3 Az amplikontárak filogenetikai diverzitása

Az amplikontárakból az összes vizsgált mintát figyelembe véve összesen 48 filogenetikai törzs jelenlétét igazoltuk, melyből 44 tartozott a Bacteria és 4 az Archaea doménba, bár ez utóbbi nem volt reprezentatív, mivel a használt primerpár – miközben az ősbaktériumok 16S rDNS-ét is felszaporíthatja – azokra nem szelektív.

Főkomponens analízisen alapuló biplot ábrán szemléltettük, hogy a mintákban jelen lévő törzsek hogyan befolyásolták a minták egymáshoz viszonyulását (5.18). Az első főkomponens alapján az NGS_BT1W elvált a többi mintától, melyet főleg a Proteobacteria törzs befolyásolt, ez a phylum ugyanis majdnem kétszer akkora relatív abundanciával volt jelen a NGS_BT1W-ben, mint a többi mintában. Az NGS_BT4W az első főkomponens alapján középen helyezkedett el és a két üledékminta közösségei balra tolódtak tőle többnyire a Planctomyces és a Verrucomicrobia törzsek alapján. Érdekes megfigyelni, hogy az elkülönülésben szerepet játszottak az ismert törzsekbe nem besorolható szekvenciák, melyek az üledékmintákban több, mint 0,1-es abundanciával voltak jelen, ami arra utal, hogy ezekben a mintákban nagy lehet az eddig ismeretlen OTU-khoz tartozó baktériumok aránya. A második főkomponens mentén Az NGS_BT4W amplikontár volt a leginkább kiugró, melyet nagyobb mértékben az Actinobacteria, kisebb mértékben a Bacteroidetes törzsek befolyásoltak. Az előbbi taxon igen magas relatív abundanciával volt jelent a mintában, miközben a többiben csak csekély számmal képviseltette magát. Az utóbbi phylum minden mintában jelen volt, de a BT4W-ben kicsivel dominánsabb volt, mint a többiben.

Az amplikontárakból feltárt mikrobaközösségek filogenetikai megoszlásának megjelenítésére buborékdiagrammot választottunk, mely szemléletesen mutatja be a mintákban jelen lévő taxonokat, azok relatív abundanciájának vizuális megjelenítésével együtt. Először a filogenetikai törzseket tárgyaljuk, melyet az 5.19-es ábra szemléltet.



5.18 ábra – Az amplikontárak főkomponens analízisen alapuló biplot elemzése filogenetikai törzs szinten

A BT1W minta amplikontárában, mely a fenti vizsgálatok szerint is a legkevésbé diverznek bizonyult, 10 filogenetikai törzs jelenlétét igazoltuk, bár ezek közül három volt különösen domináns. Majdnem a szekvenciák fele ebből a mintából a Proteobacteria törzshöz tartozott, miközben szép számmal voltak jelen a mintában a Cyanobacteria és Bacteroidetes csoportok képviselői is. A BT4W minta amplikontárjának filogenetikai törzsei már egyenletesebben oszlottak meg; az Actinobacteria törzs 0,2 körüli relatív abundanciával képviseltette magát, míg a Bacteroidetes, Cyanobacteria és Proteobacteria phylumok továbbra is jelen voltak a vízmintában, de alacsonyabb relatív abundanciával, mint az első tóban. További szerepet játszottak a közösségalkotásban a Planctomycetes, Parcubacteria és Firmicutes törzsek tagjai is, míg számos egyéb phylum volt jelen rendkívül alacsony relatív abundanciával. Ebben a mintában a szekvenciák 1,9%-a nem volt besorolható egyetlen csoportba sem (Bacteria_unclassified).



5.19 ábra – A baktériumtörzsek megoszlása relatív abundancia szerint az amplikontárakban

A vízmintákban jelen lévő filogenetikai törzsek mindegyike képviseltette magát az üledékmintákban is. A BT1S minta legnépesebb csoportjai a Proteobacteria és a Bacteroidetes phylumok voltak, melyek mellett jelentős szerepe volt a Cyanobacteria, Firmicutes, Parcubacteria, Planctomycetes, Chloroflexi, Aminicenantes, Fusobacteria és Spirochaetae csoportoknak is. A főkompenens analízis során már rámutattunk arra, hogy az azonosítatlan szekvenciák mindkét üledékmintában több mint 0,1-es relatív abundanciával voltak jelen. Csak ebben az amplikontárban képviseltették magukat az Amatimonadetes, az Atribacteria, a Fusobacteria és az JL-ETNP-Z39A törzsek tagjai. A BT4-es mintában a Bacteroidetes törzs volt a legabundánsabb; ide tartozott az amplikontár szekvenciáinak megközelítőleg negyede. Emellett 0,15-0,18 közötti relatív abundanciával voltak jelen a Proteobacteria és a Planctomycetes törzsek tagjai, de jelentősebb taxonok voltak még a Cloacimonetes, Cyanobacteria, Parcubacteria és Firmicutes phylumok is. Az Elusimicrobia törzs csak ebben az amplikontárban szerepelt.

A Bacteria doménbe tartozó rendek közül 153 volt jelen a vizsgált amplikontárakban (melybe beleszámoltuk a rend szinten nem, csak magasabb taxonómiai szinteken azonosítható baktérium csoportokat is), ezeket szintén buborékdiagramon szemléltettük (5.20 ábra). A továbbiakban részletesebben is kitérünk azokra a filogenetikai rendekre, melyekbe egy adott amplikontár szekvenciáinak minimum 2,5%-a tartozott (0,025-ös relatív abundancia érték fölött). A csoportok tárgyalásakor erre a tetszőlegesen meghatározott küszöbértékre azért volt szükség, mert a mintákban számos, rendkívül alacsony amplikonszámmal képviselt csoport volt jelen, melyek tárgyalása jelen keretek között nem lehetséges és szerepük – az alacsony abundanciájuk miatt – valószínűsíthetően nem számottevő.

Az NGS_BT1W-ben összesen 30 baktériumrend jelenlétét igazoltuk, melyek közül nyolc rend szinten nem besorolható szekvenciákat gyűjtött egybe. Öt domináns rend között oszlott meg a szekvenciák 92%-a. Ezek közül a legabundánsabb, 0,35-ös értékkel a Subsection III volt, mely a Cyanobacteria törzsbe tartozik és mai tudásunk szerint egy polifiletikus csoport, mely hagyományosan az Oscillatoriales rendnek felelt meg és magába foglalja az összes fonalas, egy osztódási sík mentén osztódó cianobaktériumot (Castenholz, Rippka, és Herdman 2015). A Burkholderiales rend a Betaproteobacteria osztályból 0,22-es relatív abundanciával képviseltette magát, míg a Campylobacterales rend (Epsilonbacteraeota törzs, korábban Epsilonproteobacteria osztály (Parks és mtsai 2018; Waite és mtsai 2017)) 0,17-tel. Ez utóbbi rendet a mintában egyedül az *Arcobacter* genusz képviselte; melybe nitrát redukálására képes mikroaerofil szervezetek tartoznak, aminosavakat és egyéb szerves savakat hasznosítanak szénforrásul (Vandamme és mtsai 1991).

A Bacteroidetes törzsből a Flavobacteriales rend (0,12) és a Gammaproteobacteria osztályból az Oceanospirillales rend (0,06) szintén jelentősebb csoportoknak bizonyultak ebben az aplikontárban. A Vibrionales rend – bár kisebb csoportnak bizonyult (0,01) – csak ebből az aplikontárból volt kimutatható.

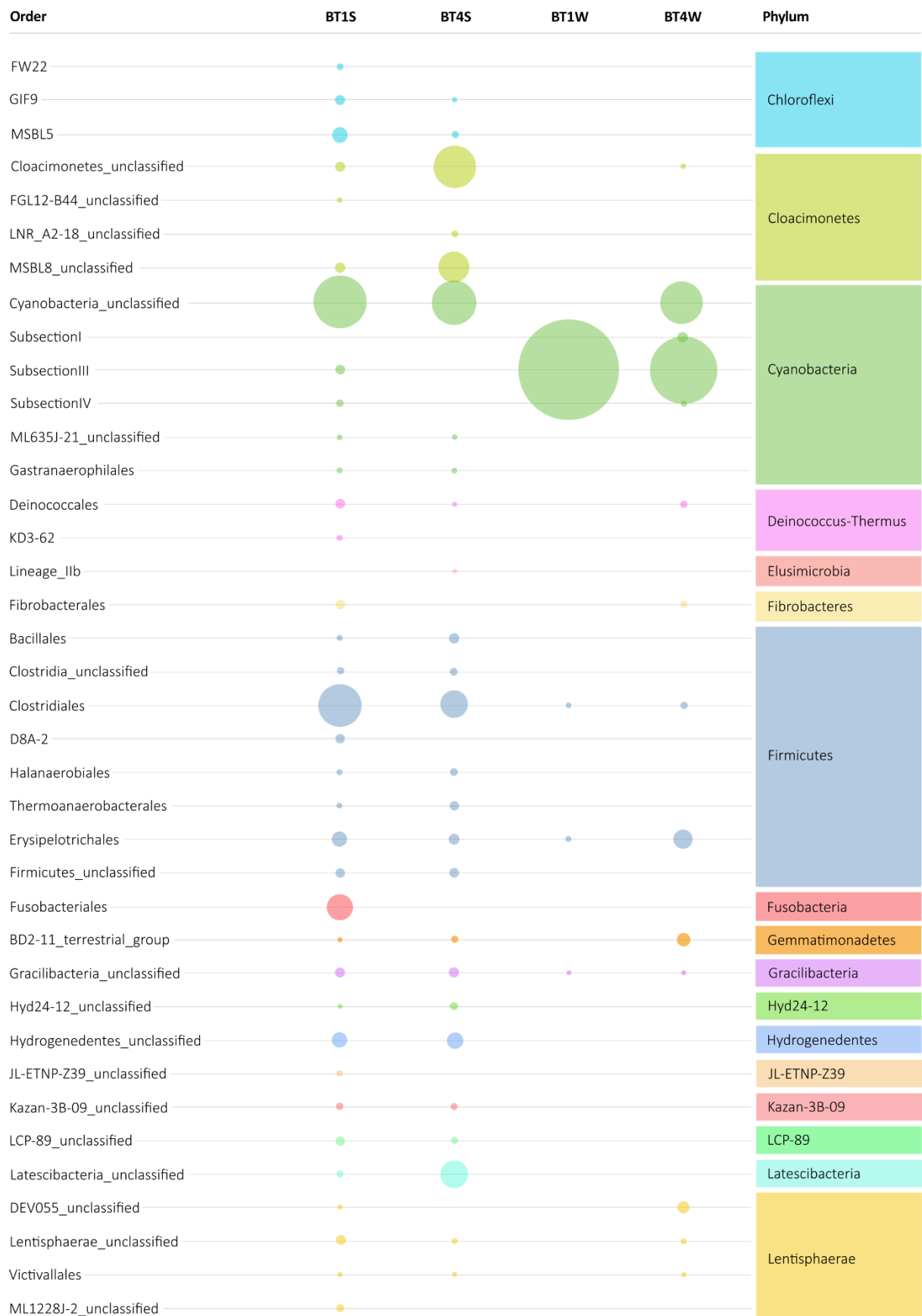
Az NGS_BT4W aplikontárban egyenletesebb volt a rendek megoszlása, mint ahogy ezt a törzsek szintjén is tapasztaltuk; itt 62 bakteriális rend szerepelt, melyek közül 20 csoport tartalmazott rend szinten nem besorolható szekvenciákat. 11 filogenetikai csoport között oszlott meg a szekvenciák 70%-a, de további 14%, filogenetikai renddel nem társítható szekvencia tartozott a Cyanobacteria, Actinobacteria és Parcibacteria törzsekhez. Ebben a mintában is jelentős volt a Subsection III cianobaktériumok szerepe, bár a rend relatív abundanciája az előző mintához képest a felére esett (0,16). A Bacteroidetes törzsből a Cytophagales (0,09) és a Sphingobacterales (0,08) rendek játszottak fontosabb szerepet a dominanciaviszonyok meghatározásában, miközben az Actinobacteria törzsből a Micrococcales rend (0,07), a betaproteobaktériumok közül pedig a Burkholderiales rend is jelen volt több képviselővel is. A kisebb, de nem minor csoportok közé tartozott az Acidimicrobiales és PeM15 rendek az Actinobacteria törzsből, valamint számos besorolhatatlan aktinobaktérium szekvenciáját is kimutattuk piroszekvenálással ebből a mintából. A Bacteroidetes törzsből a Flavobacteriales rend (0,05) ebben a mintában is jelen volt, mint az előző vízmintában, bár itt jóval kisebb szerephez jutott. A Planctomycetes törzs Planctomycetales rendje 0,04-es relatív abundanciával volt jelen, valamint az Alphaproteobacteria osztályból a Rhodobacterales (0,03) és Caulobacterales (0,03) rendekbe tartozó szekvenciák jelenlétét is igazoltuk. Hét rend volt jelen ebben a mintában, melyeket nem sikerült a többi mintából készült aplikontárban azonosítanunk.

Az NGS_BT1S mintából készült aplikontár baktérium rendek szerinti megoszlása viszonylag egyenletesnek bizonyult, 119 rendszintű csoport képviseltette magát a mintában, melyek közül 58 csoport olyan szekvenciákat tartalmazott, melyek csak magasabb filogenetikai szinten voltak besorolhatóak. A domináns csoportok között (melyekhez a szekvenciák 70%-a tartozott) is igen nagy volt az azonosíthatatlan rendek aránya; a tíz legabundánsabb csoport közül csak három volt egyértelműen filogenetikai rendként azonosítható, a többi hét csoport rend szinten azonosíthatatlan amplikonszekvenciákat foglalt magába. A szekvenciák 6%-a volt Bacteria doménbe tartozó, de alacsonyabb szinteken nem azonosítható, valamint 8%-a tartozott rend szinten nem azonosítható cianobaktériumokhoz. A Planctomycetes törzsbe tartozó vadinHA49 csoporthoz a szekvenciák 5%-a tartozott, míg a Parcubacteria törzs azonosíthatatlan tagjai szintén 0,05-ös relatív abundanciával voltak jelen. A Bacteroidetes törzsben két azonosíthatatlan filogenetikai

szintű csoport is szerepelt, a vadinHA17 kevésbé bizonyult csak abundánsabbnak (0,035), mint a BD2-2 csoport (0,028). Rend szinten azonosíthatatlan deltaproteobaktérium szervezetek tették ki a szekvenciák 2,6%-át. A valódi rendek közül három bírt 0,025 fölötti relatív abundanciával. Ezek közül is a legtöbb ampikon a Firmicutes törzsbe tartozó Clostridiales rendbe tartozott (0,048), melyet a Deltaproteobacteria osztályba tartozó Syntrophobacterales rend (0,026) követett. Jelentősebbnek bizonyult még ebben az ampikontárban a Chromatiales rend (Gammaproteobacteria törzs), melyhez a szekvenciák 2,5%-a tartozott. A mintából készült ampikontárban 18 olyan rendszintű csoportot azonosítottunk, melyek a vizsgált minták közül csak itt voltak jelen.

A szekvenciák rendek szerinti megfeleltetésével hasonló problémánk adódott az NGS_BT4S ampikontár esetében is; a tíz legabundánsabb csoportból szintén hét volt filogenetikailag meghatározhatatlan szintű, vagy tartalmazott szekvenciákat, melyek nem voltak rend szerint besorolhatóak. A Planctomycetes törzsbe tartozó vadinHA49 volt a minta legabundánsabb csoportja (0,096), melyet 0,072-es relatív abundanciával követett a besorolhatatlan baktériumszekvenciák csoportja. A Parcubacteria törzs azonosíthatatlan tagjai ebben a mintában is dominánsak voltak; 0,064-es relatív abundanciával voltak jelen, ugyanezt elmondhatjuk a besorolhatatlan cianobaktériumok csoportjáról, mely a szekvenciák 5,4%-át jelentette. A Cloacimonetes törzs besorolhatatlan tagjaihoz a szekvenciák 5,1%-a tartozott, de szintén egy, a rendbe tartozó MSBL8 csoport is jelen volt 0,025-ös relatív abundanciával. A Bacteroidetes törzs vadinHA17 csoportjához a szekvenciák 4,6%-a tartozott. Ez az ampikontár 111 rendet tartalmazott, melyek közül 52 csoport foglalt magába csak rendek fölötti csoportokba besorolható szekvenciákat.









5.20 ábra – A filogenetikai rendek és a rend szinten nem besorolható szekvenciák csoportjait szemléltető buborékdiagram. A buborékok korrelálnak a csoport relatív abundanciájával, melyhez mérettáblázat az ábra bal alsó sarkában található.

6. Eredmények értékelése

6.1 A tórendszerben bekövetkező tér- és időbeli változások, és a tavak közötti közösségszerkezeti eltérések

A tavakban a vizsgálati időszak alatt bekövetkező fizikai- és kémiai változások közül az egyik legjelentősebb az oxigénkoncentráció és az oxigéntelítettség növekedése volt, melyre a tórendszer cianobaktériumközösségei feltehetően jelentős hatást gyakoroltak, főleg a nyári időszak alatt, oxigéntermelő fotoszintézisük révén. A DGGE elemzések szerint az *Arthrospira* genusz volt az azonosított taxonok közül a legtöbb mintában szereplő közösségalkotó. Miközben a vízmintákban az *Arthrospirákat* minden mintában hasonlóan domináns, erős csík jelezte a gélben, az üledékminták esetében a csík halványabb volt, és intenzitása változott a minták között. A BT4-es tó üledékében a nemzetség jelenléte vastagabb csíkot eredményezett (5.5, 5.6, 5.7 ábrák, Függelék 4. táblázat). Az *Anabaenopsis* genusz kizárólag szeptemberben volt kimutatható a tóvízből, bár az első tó (BT1) üledékéből 2012 márciusából is azonosítottuk.

A tórendszerből kimutatott *Arthrospira* fajok azonban nem csak az oxigéntermelő fotoszintézisük miatt voltak fontosak a használt geotermális víz fizikai-kémiai változóinak átalakításában, hanem az ammónium és a foszfát eltávolításában is jelentős szerepet játszhattak. Az, hogy az *Arthrospira* fajok az eutróf vagy hipertróf vizek vízminőség javítására használhatók, régóta ismert (Vonshak 1997). Egy 2010-es dél-brazíliai tanulmány szerint az *Arthrospira platensis*szel kezelt, sertéstelepekről származó hígított szennyvízben jelentősen csökkent a KOI_k és az összes foszfor mennyisége, melyet a cianobaktériumok hatékonyan alakítanak biomasszává. Ezt később szűréssel eltávolították, majd haltápként hasznosították (Mezzomo és mtsai 2010). Egy 2012-es görög tanulmány szerint a faj szintén hatékonyan bizonyult olívaolaj sajtoló telepekről származó szennyvíz szerves szennyezőinek lebontásában. Ebben a környezetben a szennyvizet – annak kifejezetten magas fenoltartalma miatt – nátrium hipoklorittal kezelték, de az így fennmaradó fenolszármazékok lebontásában is szerepe lehetett ennek a mikroorganizmusnak, mert jelentősen csökkentette a szennyvíz nitrát és az összes foszfor koncentrációját, valamint a kémiai oxigénigényét (Markou, Chatzipavlidis, és Georgakakis 2012). Olguin és mtsai (2003) egy sertéstelep szennyvizének az elfolyóját kezelték nagy sikerrel *Arthrospira* fajokkal; az ammónium-nitrogén eltávolítása 84-96%-ban volt sikeres, miközben 72-87 %-os foszfát eltávolítást értek el. A Barex- tározórendszer rendkívül magas kiindulási ammónium koncentrációja ($7,05 \text{ mg dm}^{-3}$ a BT1-es tó vize esetében 2013-ban) több mint a hetedére csökkent a tárolási periódus végére a

mikrobiális aktivitásnak köszönhetően. Az összes foszfor esetében is hasonló változást jegyeztünk 2013-ban, ahol az értékek átlagosan $0,8 \text{ mg dm}^{-3}$ -ról $0,4$ alá csökkentek. Ez utóbbi folyamatban játszhatott szerepet a *Simplicispira limi* (Lu és mtsai 2007) faj is, mellyel azonosságot mutató törzset a BT4-es tó üledékéből izoláltunk. Ezt a szervezetet először egy foszforszármazékokat eltávolító bioreaktorból vonták tenyésztésbe, és valószínűsíthető, hogy a tórendszer foszforkoncentrációjának csökkentéséhez járulhatott hozzá. A piroszekvenálással vizsgált minták közül a BT1-es és a BT4-es tavak üledékéből regisztráltuk a Chloroflexi törzs képviselőit, míg molekuláris klónozással a törzs AY548939_g nevű, leírt szervezetet eddig nem tartalmazó genuszát azonosítottuk a BT1-es tó üledékéből. A törzsbe tartozó szervezeteket több ízben azonosították szennyvízkezelő reaktorokból, ahol szálas szerkezetükkel fontos szerepet játszhattak a flokkulumok kialakulásában, ezáltal elősegítették a különböző anyagcseresajátosságokkal rendelkező mikrobák közösségének szerveződését és a szennyező anyagok hatékony lebontását (Bossier és Verstraete 1996; Hugenholtz és mtsai 2002). A csoport ezen sajátosságai hasznosak lehetnek az általunk vizsgált tározótó rendszerben is.

Az össznitrogén eltávolításában és aromás vegyületek lebontásában játszhattak szerepet azok az *Azoarcus* nemzetségbe tartozó szervezetek, melyeket az üledékmintákból sporadikusan mutattunk ki, mivel ismert, hogy aerob körülmények között képesek aromás szénhidrogének bontására és denitrifikációt végezhetnek. Ezek az organizmusok 95% feletti szekvencia hasonlóságot mutattak denitrifikáló bioreaktorokból származó baktériumokkal (Mechichi és mtsai 2002). Az össznitrogén értékei befolyásolták a tenyészthető mikroorganizmusok számát is a vizsgált mintákban; a BT4-es tó alacsonyabb csíraszámot mutatott, mint az összes többi, ami feltételezhetően azzal magyarázható, hogy az elérhető összes nitrogén mennyisége ebben az időpontban, ebben a tóban volt a legalacsonyabb. Ezzel összecseng, hogy az üledékminták közül is a BT4-es tóban észleltük a legkisebb csíraszámokat. Az elérhető nitrogén mennyisége azonban nagyobb hatással lehetett az általunk tenyésztésbe vonható mikroorganizmusokra, mivel az epifluoreszcens mikroszkópiával történő csíraszámbecsléseink ezzel ellentétes trendet tártak fel: itt a BT1-es tóban határoztuk meg a legkisebb, míg a BT4-es tóban a legnagyobb sejtszámot.

A termelőkutakból kinyert termálvíz fenolindexe $9,2\text{--}10 \text{ mg/dm}^3$ között változott (Németh és mtsai 2014), ez az érték a tározótavakban már alacsonyabb volt; a tározási időszak legelején, az áradás utáni időszakban (amikor a kiülepedett szennyezők visszaoldódhattak) és a rendszer legelső tavában is csak $6,1 \text{ mg/dm}^3$ -es értéken állt, de ugyanebben a tóban az előző év márciusában csak $2,8 \text{ mg/dm}^3$ volt a fenolindex, mely vízminőségi besorolás szempontjából II-es (jó), és III-as (tűrhető) vízminőségi kategóriába sorolja ezeket a vizeket. Ezáltal a vizsgált környezet

fenolszennyezése nem volt számottevő mértékű, azonban ezek az értékek a felszíni vizek átlagos fenoltartalmához képest még mindig magasnak számítanak (Függelék 1-2 táblázat). Érdekes megfigyelni azt is, hogy a tározási idő elején a BT1-es tóban volt a legmagasabb a fenolkoncentráció és ez tóról-tóra fokozatosan csökkent, míg a BT4-es tóban már csak minimális volt a fenolindex, mely megfelelt a kiváló vízminőségi kategóriának. Mivel csak a vízmintákat vizsgáltuk ilyen szempontból és a tavak gravitációsan töltődtek, ez nem vezethető gyors lebontásra, inkább az áramlás során történő szedimentációra. Ezt az elméletünket az is alátámasztja, hogy a 2013-as környezeti bolygatás hatására az összes tóban megnőttek a fenolindex értékei. Szintén érdekes, hogy 2013 tavaszán az áradás következtében az összes fenol értékek majdnem kétszeresei voltak a megelőző év márciusára jellemző értékeknek, valószínűleg annak következtében, hogy az üledékszemcsékre rakódott, oldatból kivált fenolszármazékok újrasszuspendálódtak a tóvíz felkeveredése miatt. A fenolkoncentráció változásai összhangban voltak a hőmérséklet emelkedésével is. Ez arra utal, hogy a planktonikus mikrobióta abundanciájának és aktivitásának növekedése fontos szerepet játszhat a tórendszerben a fenolvegyületek lebontásában, de a nagyobb felületű tavakból (BT1, BT4) párolgás útján is távozhattak fenolvegyületek.

Az *Arthrospirához* hasonlóan mind a három mintatípusban megtalálhatók voltak a *Hydrogenophaga* nemzetség tagjai. Ezek a szervezetek képesek heterotróf módon növekedni rendkívül változatos szénforrásokon, köztük poliaromás szénhidrogének felhasználásával is. A tóvíz esetében jelenlétük inkább a tavaszi mintákra volt jellemző, júliusban mindkét évben szórványosan voltak jelen, majd szeptemberre eltűntek a tóvizekből. Az üledékben szórványosan fordultak elő. Ez összecseng a fenolkoncentráció változásával a tórendszerben: szeptemberre a fenolindex jóval a határérték alá csökkent, így szubsztrát hiányában a *Hydrogenophaga* genusz is visszaszorulhatott.

Az *Anabaenopsis* genusz tagjai fontos és állandó szerepet töltenek be az élőhely mikrobaközösségeiben. A nemzetség fajsztípuson kimutatott tagjai az *A. elenkinii* és *A. abijatae* oxigéntermelő fotoszintézis révén hozzájárulnak a tóvíz oxigénkoncentrációjának és oxigéntelítettségének növeléséhez, melyet a vízminőséget célzó vizsgálataink is igazoltak. Ez közvetett módon segíthette a fenolkoncentráció csökkenését, mivel az aerob közeg fontos lehet az aromás szénhidrogéneket aerob körülmények között bontó oxigenáz enzimek (pl.: katekoldioxidáz) számára is.

A fenti megállapítás igaz a *Synechococcus* nemzetségre is, melynek jelenlétét a tározórendszerben csak a BT4-es tó vizéből készült amplikontárral sikerült kimutatnunk 2013 júliusában. Ez a genusz főleg az óceánok primer produkciójában jelentős (Scalan és West 2002).

A két tanulmányozott év eltérő hőmérsékleti és csapadékviszonyait a baktériumközösségi struktúrák változásai is tükrözik; a nyári minták 2012-ben a tavaszi mintákkal kerültek egy csoportba, míg 2013-ban az őszi mintákkal képeztek egy klasztert. Ez a tavaszi belvíz és a tórendszer leeresztésének a következménye is lehet, amely kedvezően hatott a mikroorganizmusok megjelenésére a tavak vízgyűjtő területéről. Azonban amint a tavakat a belvíz után újratöltötték használt termálvízzel, 2013 nyarára-őszére visszaállt a tározórendszerre jellemző baktériumközösségstruktúra. A tórendszerből származó vízminták évszakonként rendeződtek csoportokba mindkét évben; ezen belül is a BT2W és a BT3W mintákból származó baktériumközösségek mutatták a legnagyobb hasonlóságot egymással, míg a BT1W és BT4W minták bizonyultak a legkülönbözőbbeknek. A *Pseudorhodobacter* nemzetséget például kizárólag 2013 áprilisában mutattuk ki; a genusz egyöntetűen mindegyik vízmintában jelen volt ebben az időpontban, de júliusra eltűnt a tározórendszerből. Ez is magyarázható azzal, hogy 2013 tavasza szokatlan volt a belvíz miatt, mely elengedhetetlenné tette a tavak lecsapolását és újratöltését. Ez zavart okozott a rendszerre jellemző közösségei strukturában és ahhoz vezethetett, hogy bizonyos fajok képviselői nagyobb arányban fordultak elő.

A biofilm minták elemzése a fentiekől eltérő összképhez vezetett: ezek a minták sokkal inkább ki voltak téve a környezet és az időjárás hatásainak (napsütéses órák száma, vízborítottság, vagy időleges kiszáradás és erős szél). A vizsgált minták vízben lévő tárgyak vagy vízínövények szárának felszínéről származtak.

Miközben a BT3-as tó a tározórendszer legmélyebb tava, elég sekély ahhoz, hogy a szél teljesen átkeverhesse. A tórendszer tavai a leeresztési ciklusok miatt mindenképpen holomiktikusak (tehát teljesen átkeveredőek) és ezen belül is valószínűsíthető, hogy polimiktikusak (egy évben, vagy akár egy évszakban is többször átkeveredhetnek), a tó kis mérete és folyamatos feltöltése miatt. Tehát a baktériumközösségek mélységi tagozódása ellenére valószínűsíthető, hogy ebben a tóban nyári termoklin réteg nem tud kialakulni.

A részletes bakteriális közösség szerkezetet nagy felbontásban csak pontszerűen vizsgáltuk, így az időbeli különbségek elemzésekor a DGGE vizsgálatok eredményeire hagytuk; ez esetben a mintáknak megfeleltethető sávokban előforduló csíkokból következtettünk a domináns közösségalkotók számára. A vízminták esetében a legtöbb csíkot 2013 szeptemberében detektáltuk, de ettől alig maradtak csak el az előző év szeptemberéből származó vízminták. Érdekes, hogy míg diverzitásban a két év hasonló volt egymáshoz, a közösség összetétele jelentősen különbözött az UPGMA dendrogram szerint (5.5 ábra). A befolyó csurgalékvízben detektáltuk a legalacsonyabb számú csíkot, mellyel összhangban voltak az általunk mért direkt

sejtszámok is; a befolyóvízben átlagosan egy nagyságrenddel kevesebb prokarióta szervezetet számoltunk, mint a tavak vizében. A tavak között is megfigyeltünk különbségeket a domináns közösségalkotók számában: a júliusi és a szeptemberi mintákban a BT4W minták tartalmazták a legtöbb csíkot, míg a tavaszi időszakban ez a szám jóval kiegyensúlyozottabb volt a tavak között. A BT4-es tó vízmintái ezen kívül teljes sejtszámban is élen jártak a nyári hónapokban, sőt még októberben is kétszerese volt a teljes sejtszáma a BT4-es tó vizének mint a többi vízmintáénak, melyet epifluoreszcens mikroszkópián alapuló sejtszámlálással igazoltunk (5.1 táblázat).

Az üledékminták esetében a szezonális változások diverzitásra gyakorolt hatása nehezebben tettenérhető, a minták sokkal egységesebbek ilyen szempontból, azonban a két vizsgált év között látható különbség; 2013-ban több domináns közösségalkotó volt jelen az üledékmintákban, mint 2012-ben, és a nyári hónapokra itt is jellemző a BT4 minták előnye.

A biofilmminták esetében szintén igen kiegyensúlyozott volt a domináns közösségalkotók DGGE gélben detektált száma, a 2012-es év júliusából származó minták bizonyultak valamivel diverzebbnek a többinél.

A korábban DGGE-vel is vizsgált, közeli Therm-Organ tó mikrobiális közösségeinek térbeli és időbeli változásai nagy hasonlóságot mutattak a Barex tórendszerből kapott eredményeinkhez. A mintavételi helyek között (mintatípusokon belül) sokkal kisebb különbségeket tapasztaltunk, mint a mintavételi időpontok között. Ezen kívül abban a tóban is az üledékminták bizonyultak a leginkább, a vízminták a legkevésbé diverznek, valamint a befolyó csurgalékvíz közösségösszetétele itt is lényegesen eltért a tóvízmintákétól. A domináns közösségalkotók szintjén azonban alig fedeztünk fel egyezéseket. Az *Arthrospira* és a *Hydrogenophaga* nemzetségeket a Therm-Organ tóból nem tudtuk DGGE-vel kimutatni, a DGGE csíkok erőssége alapján a vízminták legabundánsabb genusza 2010 márciusában a *Rhodobacter*, júliusában és szeptemberében pedig a *Halospirulina* volt (Borsodi és mtsai 2012, 2016; Szirányi 2012). Ezek a különbségek arra vezethetők vissza, hogy a Therm-Organ tó más termelőkutakból származó vizet kapott, a felhasználás nyáron is folyamatos volt, így nagyobb termálvíz-terhelés érte a tavat, valamint a téli-nyári leeresztési mechanizmus eltérő volt, mely más-más áramlásokat okozott a tóban. Egy 10 ha területű, 150 000 m³ víz befogadására képes víztest máshogy reagál a környezeti változásokra is, mint egy több, kisebb térfogatú tóból álló, sorbakapcsolt tározórendszer.

A vízminőségi vizsgálataink és a baktériumközösségszerkezetek elemzéséből származó eredményeink alapján megállapítható, hogy a tározórendszerben a legkülönbözőbb tavak az egymástól legnagyobb távolságra elhelyezkedők (BT1-es és BT4-es) voltak a tórendszer tavainak

gravitációs összekapcsoltsága és kiegyenlített vízjárása ellenére. Megállapítható tehát, hogy a tározási időszak alatt a mintavételi helyek között számottevő különbség volt ott, ahol a használt termálvíz belépett az első tóba (BT1), és ahol a tárolt termálvíz elhagyta a rendszert (BT4). A BT1-es és BT4-es tavak közötti eltérés a közbelső tavak (BT2-es és BT3-es) eltérő jellegével függhet össze; a szinte teljes nádborítottság miatt a BT2-es tó hozzájárulhatott a BT1-es tó vizének szűréséhez, míg a BT3-as tó nagyobb vízmélységének köszönhetően csökkenthette a BT4-es tó felé irányuló áramlási sebességet. A négy tó közül a BT1 esetében számoltuk a legkisebb, míg a BT4 esetében a legmagasabb átlagos sejtszám értéket melyek összecsengnek a fenti feltételezésünkkel.

A BT1-es és a BT4-es tó közötti különbségeket vizsgálva szembevető volt a vízmintákban a egyes taxonok arányának a növekedése, és mások csökkenése, mely azzal állhatott összefüggésben, hogy a szennyezőanyagok koncentrációja a tavak között gradiens-szerűen változott (5.1-5.3 ábrák). A tavak egymással úgy vannak sorbakapcsolva, hogy gravitációsan kiegyenlítődjön a vizük a csatornákon keresztül, de kialakultak markáns különbségek a használt termálvíz belépésének pontja (BT1) és a tórendszer végpontja (BT4) között. A BT4-es tóban a BT1-eshez képest lecsökkent a fenol koncentrációja, alacsonyabbak lettek a BOI_5 és a KOI_k értékei, míg töményedés útján megemelkedett a pH és a vezetőképesség, emellett ez a tó már nem volt kitéve közvetlen termálhatásnak a befolyó csurgalékvíz révén. Ezek a tényezők együttesen eredményezték, hogy a BT4-es tó mikrobiális közössége jobban hasonlított a természetes szikes tavakéra, mint a BT1-es, bár ez a különbség nem volt számottevő, és főleg a tározási időszak elején állt fent. Ez a jelenség állhatott amögött, hogy a *Synechococcus* kékalga és a *Rhodobaca* bíbor nemkén baktériumnemzetségek (melyek tipikusan alkalikus-szalinikus, sekély természetes víztestekre, szódavíztavakra jellemzőek), a vízminták közül csak a BT4W-ből kerültek elő. A *Nitriliruptor*, a *Porphyrobacter*, a *Pseudospirillum*, a *Salinarimonas*, a *Synechococcus* és a *Thioalkalivibrio* szintén a természetes szikes tavakra jellemző genuszok, melyeket a BT4W mintában megtaláltunk, de a BT1W mintában nem. Ez a fajta elkülönülés már nem volt megfigyelhető az üledékmintákban, ahol valószínűsíthetően a BT1-es tóban is elindulhatott egy differenciálódás a termálhatás zavarása nélkül. A BT1-es tó üledékének baktériumközössége alakulásában fontos szerepe lehetett más tényezőknek; mint a nagyobb fenol koncentrációnak, az anoxikus környezetnek és a fény hiányának is.

Magasabb taxonómiai csoportok szintjén a BT4W mintára az Actinobacteria törzs magas részaránya, a Planctomycetales és Cytophagales rendek jelenléte volt jellemző. Mindkét vízmintában számottevő volt a Cyanobacteria törzs, valamint a Proteobacteria törzsön belül a Betaproteobacteria osztály túlsúlya. Az Epsilonbacteraeota törzs (korábban Epsilonproteobacteria

osztály) Campylobacterales rendje, csak a BT1W mintából volt kimutatható. Ezzel szemben a Deltaproteobacteria osztály jelenléte az üledékmintákra volt jellemző, a Cloacimonetes rend pedig csak a BT4S mintára.

6.2 A taxonómiai, különös tekintettel az extremofil (alkalofil, halofil) szervezetek diverzitásának összevetése hasonló élőhelyekével

A vizsgált tározórendszerből összesen 57 törzs jelenlétét igazoltuk, melyek közül a Deferribacteres és a WS3 törzseket csak a DGGE vizsgálataink során tudtuk azonosítani. Ennek az oka, hogy a tározórendszert tápláló befolyóvízmintát csak ezzel a módszerrel vizsgáltuk, az előbbi törzset innen azonosítottuk. A Deferribacteres törzsbe anaerob vas-, nitrát- vagy mangánlégző szervezetek tartoznak, melyek közül több került elő hévforrásokból, (sőt magas só és szénhidrogéntartalmú termálvízből is (Greene, Patel, és Sheehy 1997)). Így a tórendszerbe folyó termálkutak vize ideális környezet lehetett számukra, azonban a tározótavak életkörülményeihez már nem tudtak alkalmazkodni.

Szintén nem csak a módszerek felbontásában és az eltérő primerek használatában rejlő különbség, hanem az eltérő mintavételi időpontok is eredményezték, hogy a molekuláris klóntárak feldolgozása során is öt Bacteria (BRC1, Peregrinibacteria, Rhodothermaeota, Saccharibacteria_TM7, WS6), és egy Archaea törzset (Bathyarchaeota) regisztráltunk, melyek piroszekvenálással a következő év szeptemberében nem kerültek elő.

A Planctomycetes törzset a DGGE vizsgálatokkal mutattuk ki 2012 júliusában nádszárlóról származó biofilmből, piroszekvenálással, 2013 júliusában az BT1-es tó üledékéből, valamint a BT4-es tó üledékéből és vizéből. Valószínűsíthető, hogy a törzs képviselőinek leginkább a nyár közepi hőmérsékletviszonyok kedveznek, egy tanulmány szerint a phylum relatív abundanciája 48%-al nőtt meleg és szárazság hatására egy füves prélin (Sheik és mtsai 2011).

A környezet legabundánsabb törzsei mind a három molekuláris módszer alapján a Proteobacteria, a Bacteroidetes és a Cyanobacteria törzsek voltak, miközben jelentős közösségalkotónak bizonyultak még az Actinobacteria és a Firmicutes törzsek is. Közülük a cianobaktériumok a vízmintákra voltak jellemzők, miközben a proteobaktériumok inkább az üledékmintákban fordultak elő. Egy 12 édesvízi tó mikrobiális közösségeit összehasonlító tanulmány szerint (Zwart és mtsai 2002) a vizsgált tavak mikrobaközösségeiben is a fenti taxonok bizonyultak tipikusnak, bár jóval alacsonyabb volt a cianobaktériumok aránya, ami azzal magyarázható, hogy a vizsgált tavak mind oligotróf jellegűek voltak, miközben a Borex

tározórendszer eutrófnak minősül, mely kedvez a cianobaktériumok elszaporodásának. A Kiskunsági Nemzeti Park területén fekvő, sekély, szikes, időszakosan kiszáradó tavak közösség szerkezetére nyári időszakban szintén nem a cianobaktériumok túlsúlya jellemző, ami annak lehet a következménye, hogy ezekben a tavakban gyakran az *Oocystis submarina* eukarióta alga vízvirágzása kiszoríthatja a kéalgákat (Borsodi, Knáb, és mtsai 2013; Korponai és mtsai 2015). Az eutrofizációval főleg az Oscillatoriaceae családot hozták összefüggésbe (Scheffer és mtsai 1997), melyhez tartozó Oscillatoriales rendet Subsection III néven mi is domináns taxonként azonosítottuk.

Zwart eredményei (2002) alapján édesvizekben inkább az alfa- és bétaproteobaktériumok jellemzőek. Vizsgálataink szerint 2012 szeptemberében, molekuláris klóntárak elemzése alapján szintén e két proteobaktérium osztály volt jelen, azonban csupán kis gyakorisággal. 2013. júliusában piroszekvenálós vizsgálatainkkal viszont a bétaproteobaktérium dominancia mellett a BT1-es tó vizében az Epsilonbacteraeota törzset (korábbi Epsilonproteobacteria osztályt), a BT4-es tó vizében pedig az Alphaproteobacteria osztályt azonosítottuk abundáns csoportokként. Az üledékmintákban a molekuláris klóntárak feldolgozása során főleg a Beta-, a Gamma-, és a Deltaproteobacteria osztályok dominanciáját tapasztaltuk az Alphaproteobacteria osztállyal szemben, mely egybeesik Tamaki és munkatársai (2005) eredményeivel. Az általuk 16S rRNS gén alapú molekuláris klóntárakkal vizsgált sekély, eutróf vizű tóban szintén a többi Proteobacteria osztály dominanciáját tapasztalták az alphaproteobaktériumokkal szemben. Az üledékmintákban a 2013-as év júliusában főleg a Deltaproteobacteria osztály képviseltette magát, de kisebb számban kimutattunk béta- és gammaproteobaktériumokat is. Hasonló eredményeket kaptunk a környékbeli, ugyanezen termálkutak vizével táplált Therm-Organ tározótó üledékének molekuláris klóntárakkal való elemzésekor is, ahol a jelentős Deltaproteobacteria dominancia mellett a Betaproteobacteria osztály volt még jelen (Borsodi és mtsai 2016; Szirányi 2012). A Kiskunsági Nemzeti Park területén elhelyezkedő Böddi-széki szikes tó vizére is inkább a Gammaproteobacteria dominancia volt jellemző a törzsön belül, azonban a Büdös-szék, a Zab-szék és a Sós-ér közösségösszetételét inkább az Alphaproteobacteria osztály jelenléte jellemezte (Borsodi, Knáb, és mtsai 2013; Szabó és mtsai 2017).

Az archaeák közül mindkét mintavételi alkalommal és mindkét alkalmazott módszerrel túlnyomórészt metanogén ősbaktériumokat azonosítottunk. Kryachko és munkatársai (2012) egy kanadai olajmezőről vett minta vizes és olajos fázisának vizsgálata során szintén hasonló eredményre jutottak; a vizes fázisban a Methanobacteria osztályhoz tartozott az összes szekvencia 5,56%-a. Metanogén ősbaktériumokat azonban szép számmal mutattunk ki a tórendszert tápláló

hévízutak vizéből is, mely a víz szénhidrogéntartalmával állhat összefüggésben (Németh és mtsai 2014).

Nemzetségek szintjén a Barex tározórendszer mikrobiális közössége részben átfedést mutatott más környezetekkel, melyek hasonló fizikai vagy kémiai tulajdonságokkal rendelkeztek. Eredményeinket részletesebben a Therm-Organ tó (Borsodi és mtsai 2016; Szirányi 2012), a Kiskunsági Nemzeti Park területén található sekély, szikes tavak; a Böddi-szék (Borsodi, Knáb, és mtsai 2013), a Zab-szék, a Büdös-szék és a Sós-ér (Szabó és mtsai 2017), valamint a Kelet-afrikai árokrendszer sekély szikes tavainak mikrobiótájával vetettük össze.

A Barex tározótó rendszerből az alkalmazott módszerekkel összesen 180 nemzetség jelenlétét igazoltuk, bár ezen felül sok, nemzetség szintű csoport nem kerülhetett azonosításra. Az azonosított csoportok közül 38 olyan genust mutattunk ki, melyek hasonló élőhelyeken is megtalálhatók voltak. Ezek közül a legnagyobb hasonlóságot a Barex rendszerrel érdekes módon nem a közelben lévő, hasonló összetételű Therm-Organ tó, hanem a Kiskunsági Nemzeti Park területén elhelyezkedő szikes tavak mutatták. A két élőhely között 21 közös nemzetséget találtunk, név szerint az *Alkalimonas*, *Anoxynatronum*, *Bacillus*, *Desulfonatronum*, *Flavobacterium*, *Fusibacter*, *Idiomarina*, *Loktanella*, *Luteolibacter*, *Marinospirillum*, *Nitriliruptor*, *Nitrincola*, *Porphyrobacter*, *Pseudospirillum*, *Rhodobaca*, *Rhodobacter*, *Roseococcus*, *Salinarimonas*, *Seohaecicola*, *Spirochaeta* és *Synechococcus* genuszokat. Fontos megemlíteni, hogy a nemzetségek relatív abundanciái a két környezetben lényegesen eltérhettek, valamint azért, hogy a Kiskunsági Nemzeti Park területéről négy különböző élőhelyet is bevontunk az összehasonlításba, nagyobb átfedésre nyílt lehetőség.

A Kelet-afrikai árokrendszer sekély, szikes tavai esetében 14 közös nemzetséget azonosítottunk, ezek közé a mindkét élőhelyen rendkívül nagy relatív abundanciával jellemezhető *Arthrospira* fajok is beletartoztak. Ezen felül a következő genuszok voltak jelen mindkét élőhelyen; *Anabaenopsis*, *Bacillus*, *Desulfonatronum*, *Desulfosarcina*, *Dietzia*, *Hydrogenophaga*, *Methanocalculus*, *Nesterenkonia*, *Rhodobaca*, *Spirochaeta*, *Streptomyces*, *Synechococcus* és *Thioalkalivibrio*.

A Therm-Organ tó, mely adottságaiban leginkább hasonló volt a Barex-rendszerhez, az utóbbival 12 közös nemzetségen osztozott: itt is jellemző volt az *Arthrospira* genusz dominanciája a vízmintákban, valamint a *Hydrogenophaga* nemzetséget is kimutattuk mindkét környezetből, ezen felül az *Alishewanella*, *Bacillus*, *Desulfonatronum*, *Oceanibaculum*, *Planococcus*, *Rheinheimera*, *Rhodobacter*, *Smithella*, *Spirochaeta* és *Syntrophorhabdus* nemzetségek esetében tapasztaltunk átfedést.

Azok a mikroorganizmusok, melyek mind a Barex-tórendszerben, mind egy hasonló, alkalikus-szalinikus élőhelyen jelen voltak, valószínűsíthetően extremofilek, melyek magas só és pH toleranciával rendelkeznek, vagy egyéb módon adaptálódtak ehhez az extrém környezethez. A vizsgált környezet fizikai-kémiai sajátosságai a halofil és az alkalofil, illetve a szénhidrogénbontó szervezeteknek kedveztek; az általunk tenyésztésbe vont törzsek között számos mutatott egyezést olyan fajokkal, melyeket tengerekből, szikes tavakból, vagy szénhidrogénnel szennyezett talajokból, kármentesítő bioreaktorokból írtak le. A továbbiakban sorra vesszük a fent említett nemzetségek közül azokat, melyek magasabb, mint 0,03-as relatív abundanciával voltak jelen a tórendszerben, valamint további, a tórendszerből kimutatott organizmusokat is tárgyalunk, melyek extrém környezetekből kerültek leírásra, vagy bizonyítottan alkalofil és halofil szervezetek.

A tórendszer vizében kétség kívül az *Arthrospira* fajok dominanciája volt a legmeghatározóbb a nyár folyamán; ezek a szervezetek tették ki a vízminták legabundánsabb nemzetségét a 2013 júliusi mintákban, melyekből a piroszekvenálás készült (Függelék 7. táblázat). 2012 szeptemberében klóntárakkal is az *Arthrospirát* igazoltuk a legabundánsabb genusként (Függelék 6. táblázat), és a DGGE vizsgálatok tanúsága szerint is mindegyik időpontban kimutathatók voltak a tórendszerből. Ezeknek a fonalas cianobaktériumoknak a dominanciája a vizsgált víztestekben nem meglepő; Kelet-Afrika sekély szódavízaiban, melyek több paraméterben hasonlítanak az általunk vizsgált környezetre rendkívüli mennyiségben fordulnak elő ezek a gyakran vízvirágzást is okozó szervezetek, melyek az ott élő kis flaminók táplálékául is szolgálnak (Jones és Grant 1999; Sorokin és mtsai 2014, Ballot és mtsai 2004). A nemzetség tagjai nagy számban voltak jelen a 2011-ben vizsgált Therm-Organ tó vizében, mely szintén a Szarvas melletti geotermális termelőkutak vizét fogadja be, és hasonló vízkémiai paraméterekkel rendelkezik (Borsodi és mtsai 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012). Az *Arthrospira* nemzetség tagjainak szükségük van megfelelő Na^+ -ion koncentrációhoz az életműködéseik támogatásához (Pogoryelov és mtsai 2003).

Az *Anabaenopsis* nemzetség képviselői szintén megtalálhatók (trópusi, szubtrópusi és mérsékelt övi) alkalikus-szalinikus víztestekben. Az általunk is kimutatott *A. abijatae* a Kelet-afrikai Abijata tóból származik, de Sorokin és mtsai (2014) szerint a nemzetség egyike a Kelet-afrikai árokrendszer sekély, szikes tavait leginkább meghatározó cianobaktériumoknak. Az *Anabaenopsis* nemzetségbe tartozó, rövid, spirális fonalat képező és páros heterocisztát tartalmazó cianobaktériumok megtalálhatóak voltak mindkét vízmintából készült molekuláris klóntárban, a BT1S és a BT4W mintákból készült amplikontárakban, valamint az *A. elenkiniit* DGGE-vel vizsgált víz- és üledékmintából is kimutattuk.

A cianobaktériumok közé tartozik a *Synechococcus* nemzetség is, mely az Elmenteita tó legabundánsabb cianobaktérium-genuszának bizonyult egy korábbi vizsgálat során (Mwirichia et al. 2011), bár mi a BT4W mintából alacsony relatív abundanciával azonosítottuk.

A *Rhodobaca* genusz – melybe alkalitoleráns, bíbor nemkén baktériumok tartoznak – szintén a Kelet-afrikai árokrendszer szikes tavaival asszociálható; a *Rhodobaca bogoriensis* fajt a Bogoria tóból izolálták először (Milford és mtsai 2000). Munkánk során a nemzetséget az BT4-es tó vizében azonosítottuk 2013 júliusában piroszekvenálással, bár sokkal kisebb relatív abundanciával a BT1-es tó üledékében is fellelhetők voltak. Szabó és mtsai (2017) is kimutatták a Kiskunsági Nemzeti Park területén található sekély szikes tavakból (Büdös-szék, Zab-szék és Sós-ér), valamint Borsodi és mtsai (2013) ugyanitt a Böddi-széki sekély tóból. Korponai és mtsai (2015) a genuszba tartozó szervezeteket a szintén kiskunsági Kelemen-szék közelében fekvő sekély, szikes tóból azonosították, ahol egy tömegprodukcióban vett részt. A fenti adatok alapján a nemzetség tagjainak kifejezetten az alkalikus-szalinikus, sekély, magas hőingással rendelkező víztestek életkörülményei kedveznek.

Az *Alkalimonas delamerensist*, melyet molekuláris klónozással mutattunk ki a BT4-es tó biofilmjéből, egy kenyai szikes tóból izolálták először. A nemzetség tagjai az alkalikus környezetet (pH 8-11) kedvelik, valamint halotoleránsak (Ma és mtsai 2004).

A *Rhodobacter* nemzetségbe tartozó FM956479 nevű izolátumot az indiai, szikes Lonar-tóból azonosították (Shivaji 2009), mely Földünk egyetlen meteoritbecsapódásból származó bazalt aljzatú krátertava, és vízkémiai tulajdonságai (pH, szalinitás) hasonlítanak az általunk vizsgált környezethez.

A Gammaproteobacteria osztály Steroidobacter rendjének leírt fajt nem tartalmazó *FJ152613_g* genuszába tartozó molekuláris klónszekvenciákat először a mexikói, néhai, alkalikus-szalinikus Texcoco-tó kiszáradt talajának elöntéses vizsgálata során azonosították (Valenzuela-Encinas és mtsai 2009). Mi ezekkel a szekvenciákkal nagy hasonlóságot mutató OTU-kat mutattunk ki szintén molekuláris klóntáras vizsgálatokkal a BT1-es és BT4-es tavak üledékéből.

Az amplikontárakkal a tavak üledékeiből kimutatott, kénbaktériumokat magába foglaló *Thiocapsa* nemzetségben is előfordulnak fajok, melyeket korábban szalinikus környezetekből, sós mocsarokból izoláltak, egyes képviselőik haloalkalifilek (Asao, Takaichi, és Madigan 2007; Caumette, Baulaigue, és Matheron 1991; Priscu és mtsai 1982; Wit és Gemerden 1987).

Az aerob heterotróf *Rheinheimera longhuensis* a BT4-es tó üledékéből izoláltuk, melyet először egy enyhén alkalikus északkelet kínai tóból vontak tenyésztésbe (Ying Liu és mtsai 2012). A

Thioalkalivibrio nemzetség sok képviselője kifejezetten haloalkalifil; szikes tavak, sós mocsarak fotikus rétegének lakója (Sorokin és mtsai 2001).

A *Planktosalinus lacust*, melyet mi a BT1-es tó vizéből azonosítottuk molekuláris klónozással először szintén egy kínai sós tóból izolálták (H.-C. Liu és mtsai 2016), de a *Dethiobacter* nemzetség tagjai is obligát alkalofilek, először egy szikes tóból vonták őket tenyésztésbe (Sorokin és mtsai 2008).

A mindhárom mintatípusból kimutatott *Nitrincola* genoszt a Böddi-széki szikes tavakból is izolálták (Borsodi, Knáb, és mtsai 2013), ezek a szervezetek főként alkalofilek, és halotoleránsak (Dimitriu és mtsai 2005).

A *Glycocalis abyssi* faj képviselőit 2012 szeptemberében molekuláris klónozással a BT1-es tó üledékéből és a BT4-es tó biofilmjéből és vizéből mutattuk ki, de a *Glycocalis* nemzetség jelen volt 2013 júliusában a BT4-es tó üledékében is. A *G. abyssi* egy kemoorganotróf, obligát aerob, közepes sótűrésű mikroorganizmus, melyet először egy mélytengeri füstölő környékéről izoláltak (Abraham és mtsai 2013).

A *Methanobacterium aarhusense*t a BT1-es tó vizéből és a BT4-es tó biofilmjéből és vizéből készült molekuláris klóntárakból mutattuk ki, először egy tengeröböl üledékéből izolálták. Ez a kemoautotróf faj mérsékelten haloalkalofil (Shlimon és mtsai 2004).

Szintén halotoleráns lehet a Cytophagales rendbe tartozó *Mariniradius* nemzetség, mely képviselőit piroszekvenálással mutattuk ki a BT4-es tó vizéből. Ezeket az obligát aerob, kemoorganotróf baktériumokat először tengervízzel töltött haltenyésztő tározókból izolálták (Bhumika és mtsai 2013).

Vizsgálataink során számos nagy sótűrő képességgel rendelkező (halofil vagy halotoleráns) szervezetet azonosítottunk. A *Planctomyces* nemzetségbe főleg édesvízi és tengeri szervezetek tartoznak, de halotoleráns képviselői is ismertek (Lanzén és mtsai 2013; Schlesner 1989), mi a BT4W mintából mutattunk ki ide tartozó organizmusokat. A *Thermovirga* genuszban anaerob, termofil és halotoleráns (2,0–3,0 % NaCl) szervezetek találhatók (Dahle és Birkeland 2006), a BT4S minta amplikontárjában a szekvenciák 1,5%-a ehhez a nemzetséghez tartozott. Érdekesség, hogy a típustörzsüket (*T. lienii*) egy északi-tengeri meleg olajkút kinyerési vizéből izolálták, mely a szénhidrogéntartalom miatt hasonló lehet a vizsgált környezethez.

Tenyésztéssel mutattuk ki a *Bacillus alkalisediminis* és *B. aurantiacus* fajokat, melyeket magyarországi sekély szikes tavakból (Kiskunsági Nemzeti Park, Böddi-szék) izoláltak először (Borsodi és mtsai 2008, 2011). Az előbbi az általunk vizsgált tórendszer BT4-es tavának üledékéből került elő, az utóbbi faj képviselőinek tíz törzsét izoláltuk, mely szintén a legtöbb vizsgált mintában

képviseltette magát. A *Bacillus simplex* – mellyel szekvenciaazonosságot mutató organizmusokat a legnagyobb számban vontunk tenyésztésbe az egész tórendszerből - egy halotoleráns (NaCl 5%) és alkalitoleráns (pH 9) baktérium (Heyrman és mtsai 2005).

A BT4B-ből kimutatott *Marinospirillum* genuszba halofil, aerob vagy mikroaerob, heterotróf szervezetek tartoznak, (Satomi és mtsai 1998), míg a szintén biofilm mintákból azonosított aerob *Paracoccus haeundaensis* (J. H. Lee és mtsai 2004) csak 1-6% NaCl, a *Reinekea* (Romanenko és mtsai 2004) csak 0,5–5 % NaCl koncentráció mellett mutat növekedést.

A BT1-es és BT3-as tó üledékéből izolált *Dietzia cercidiphylli* (J. Li és mtsai 2008) és az egy víz- és egy üledékmintában jelen lévő *Micrococcus aloeverae* rendkívül sótoleráns baktériumok, 10%-os NaCl koncentráció mellett is képesek növekedésre, az utóbbi organizmus alkalofil is; pH optimuma 8-9 (Prakash és mtsai 2014).

Rendkívüli sótoleranciával rendelkező szervezetek tartoznak a tenyésztéssel kimutatott *Arthrobacter* nemzetségbe. Az *Arthrobacter flavus* (Reddy és mtsai 2000) nagyon nagy sótűréssel rendelkezik; 11,5%-os NaCl koncentráció mellett is növekedést mutat, pH optimuma 9-ig terjed. Az *Arthrobacter subterraneus* (Chang és mtsai 2007) még az *A. flavus*-nál is magasabb sótűrésű; 13%-os NaCl koncentráció mellett is képes életben maradni. Mindkét szervezetet a BT4-es tó üledékéből izoláltuk.

A tórendszer legextrémebb sótűrésű organizmusa valószínűsíthetően az üledékmintákból tenyésztésbe vont *Bacillus pseudofirmus*, mely egy fakultatív aerob alkalofil és halofil szervezet (Nielsen, Fritze, és Priest 1995); pH optimuma szintén 9 körül van, emellett 17%-os NaCl koncentráció mellett is életben marad, 16% mellett növekedni is képes.

Számos alkalofil és alkalitoleráns szervezet egyben halotoleráns is. A főleg az üledékekből kimutatott *Desulfonatronum alkalitolerans* obligát anaerob, halo-, és alkalitoleráns baktérium (Pikuta és mtsai 2003; Sorokin, Tourova, és Muyzer 2013), melynek pH optimuma (8,5-9,0) hasonlít a tórendszerben mért értékekhez.

A *Bacillus cohnii* (Spanka és Fritze 1993) obligát alkalofil és halotoleráns (5% NaCl mellett növekedést mutat), pH optimuma 9,7, mely szintén egybeesik a tórendszerben észlelt értékekkel.

A *Methanocalculus natronophilus* egy obligát alkalofil, halotoleráns organizmus, mely csak karbonátionok jelenlétében tudott növekedni, pH optimuma 9,0-9,5 között van, de 10,2-es pH-n is növekedést mutat, valamint 10% NaCl koncentráció mellett is életben marad (Zhilina és mtsai 2013). Ezt a fajt egy oroszországi szódátó (Tanatar II, Altai) üledékéből izolálták, a jelenlétét mi is főleg az üledékmintákból mutattuk ki.

Ázsiai szódatavak jellemző metilotróf nemzetsége a *Methylobacterium*, melynek jelenlétét a Barex tórendszerben mind amplikon-, mind molekuláris klóntárakkal igazoltuk. A nemzetséget molekuláris klónozással a BT1-es tó üledékéből és biofilmjéből, piroszekvenálással a BT1 és a BT4 tavak üledékéből és a BT4 tó vizéből azonosítottuk. Több fajuk haloalkalofil (Sorokin, Jones, és Gijs Kuenen 2000), a transzbajkái szódatavakban is megélnek, ahol a pH 9,5-10,5 között mozog (Kalyuzhnaya és mtsai 2008).

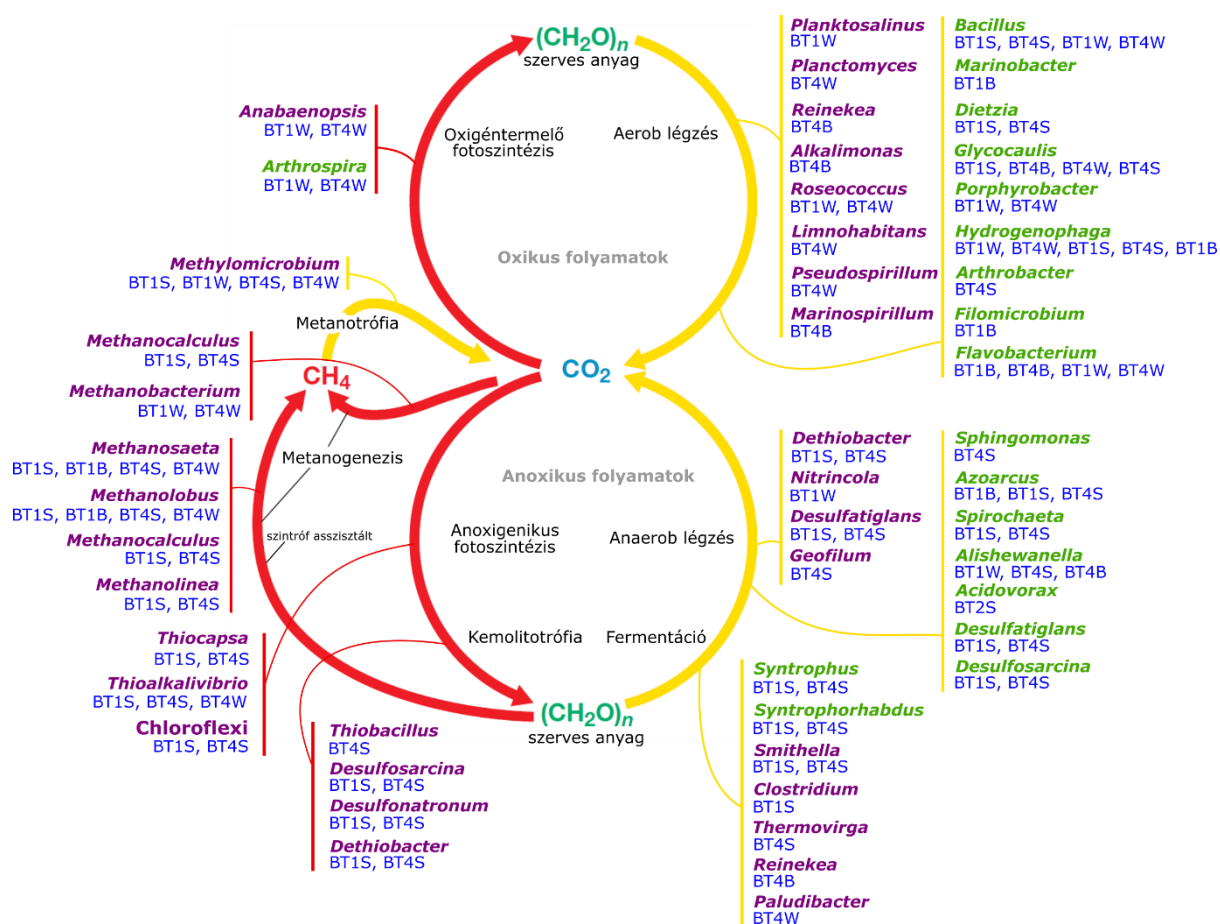
A *Microcella putealis* alkalikus (pH 11,4) talajvízből izolálták először (Tiago és mtsai 2005), mi közeli rokonát a BT3-as tó üledékéből mutattuk ki.

A tórendszer talán legextrémebb alkalofil organizmusa a *Paracoccus tibetensis*, melyet a BT2-es és BT4-es tó üledékmintáin kívül az összes vizsgált mintából tenyésztésbe vontuk. Ezt az Qinghai-Tibet-fennsík permafroszt talajából izolált szervezet pH 13-on is életben marad, optimuma pH 9,5 (Zhu és mtsai 2013).

6.3 Anyagátalakítási folyamatok a tározótó rendszerben

6.3.1 Szén körforgalom

A tórendszer szénkörforgalmába új fixált szén a tavi makrofiton növényzet fotoszintézise, és az autotróf mikroorganizmusok anyagcseréje révén kerülhet (6.1 ábra). Ez utóbbiak közé tartozik a cianobaktériumok közül az *Arthrospira* és az *Anabaenopsis*.



6.1 ábra – A Barex-tórendszer szénkörforgalmában potenciálisan résztvevő taxonok, és kimutatási helyük, tevékenység szerint. A sárga nyilak az oxidációt, a piros nyilak a redukciót jelölik. A zöld csoportnevek a szénhidrogéneket (különösen a fenolt) lebontani képes szervezeteket jelölik. Az ábra alapjául szolgáló grafika Madigan és mtsai (2015) által szerkesztett tankönyvből származik.

A primer produkcióban abundanciájuk révén a cianobaktériumok játszhatják a legfontosabb szerepet, de egyéb autotróf mikroorganizmusok is fellelhetők a tározótó rendszerben, többnyire kemolitotróf, anoxikus fotolitotrófok vagy anaerob metanogének. A *Thiobacillus*ok a BT4-es tó-, a *Desulfosarcinák* főként a BT1-es tó üledékében, végezhetnek széndioxid fixációt. Szintén mindkét amplikontárral vizsgált üledékmintában jelen voltak a *Desulfonatronum* és a *Dethiobacter*

nemzetségek, melyek tagjai fakultatív autotrófok. Anoxikus fototrófiát folytató autotróf szervezeteket a *Thiocapsa* és a *Thioalkalivibrio* bíbor kénbaktérium nemzetségekből azonosítottunk, melyeket főleg a tavak üledékéből, és a BT4-es tó vizéből mutattunk ki. A bíbor kénbaktériumokhoz hasonlóan anoxikus fotoszintézist folytathatnak a zöld nemkén baktériumokat tartalmazó Chloroflexi törzs tagjai is, jelenlétüket a vizsgált tavak üledékéből igazoltuk.

Metanogén ősbaktériumokat 2013 júliusában vett mintákból piroszekvenálással túlnyomó részben csak a két üledékmintából azonosítottunk, az előző évben; 2012 szeptemberében a vízmintákból is sikerült kimutatnunk a jelenlétüket – csakúgy, mint – az ebben az időpontban vizsgált – biofilm mintákból. Ezek közül a *Methanocalculus* és *Methanobacterium* genuszok tagjai hasznosíthatnak széndioxidot. Az előbbiek hidrogénből, széndioxidból és formiátból képesek metánt képezni; és inkább az üledékmintákra, az utóbbi a hidrogén és széndioxid jelenlétében termel metánt és a vízmintákra volt inkább jellemző (Borrel és mtsai 2012; Mori és mtsai 2000; Shlimon és mtsai 2004; Zhilina és mtsai 2013). Az utóbbi nemzetség volt az egyetlen ősbaktérium genusz, melynek tagjai kizárólag széndioxid és hidrogén felhasználásával képeznek metánt, a többi genuszba fermentációs végtermékeket is hasznosító heterotróf organizmusok tartoztak, melyek szintróf organizmusok segítségével tartják fenn anyagcseréjüket.

A *Methanolinea* nemzetség jelenléte csak a 2013 júliusában vett mintákat jellemezte. Ezek a metanogén ősbaktériumok hidrogénből és formiátból képesek metánt termelni (Imachi és mtsai 2008). A *Methanosaeta* nemzetség tagjait szintén mindkét évben kimutattuk molekuláris klóntárakkal, illetve piroszekvenálással is. A *Methanosaeta harundinacea* a BT4-es tó üledéke kivételével mindegyik környezetből kimutattuk, ecetsavat hasznosítva termel metánt (K. Ma, Liu, és Dong 2006), de ismert, hogy a faj etanolból is képes metánt termelni (Rotaru és mtsai 2014). A *Methanosaeta thermophila* szintén kizárólag acetátot hasznosít csak a növekedéshez, mi a BT1-es tó vizéből és biofilmjéből azonosítottuk.

A *Methanlobus* nemzetség *M. psychrophilus* faja képes akár 0°C-on is metanolból (vagy metilaminból és metil-szulfidból) metánt termelni, viszont 25°C fölött nem képes növekedésre, ami megmagyarázza a nemzetség hiányát a 2013-as júliusi mintákból (Zhang és mtsai 2008).

A metanogének által termelt metángáz elhagyja a tórendszert és a légkörbe kerülhet, viszont mind a BT1-es, mind a BT4-es tavak különböző mintatípusaiból is kimutattuk a *Methylomicrobium* nemzetség képviselőit, melyek a metánt közvetlenül hasznosíthatják. Ezek az aerob mikroorganizmusok obligát metanotrófok, melyek képesek a metánt vagy metanolt elektron donorként hasznosítani. A tavakban valószínűsíthetően az oxikus-anoxikus határrétegben lehetnek jelen.

Aerob légzést végző szervezeteket – nem meglepő módon – főként a víz- és az üledékmintákból azonosítottunk, közöttük előfordulnak fakultatív anaerobok is (pl.: *Hydrogenophaga*). Az anaerob légzők és a fermentációt végző szervezetek az *Alishewanella* és a *Nitrincola* genuszok kivételével mind az üledékben voltak megtalálhatók.

Az *Arthrospira* nemzetségbe tartozó cianobaktériumok képesek mixotrófiára is; vagyis arra, hogy alapvetően fotoautotróf organizmusokként szerves anyagokat hasznosítva túléljenek, ezáltal hozzájárulhatnak a magas szerves anyagterheléssel rendelkező turbid víztestek szervesanyag lebontásához (Andrade és Costa 2007). Ismert továbbá, hogy cianobaktériumok közreműködhetnek biotranszformáció által a fenol és vegyületeinek lebontásában (Lika és Papadakis 2009), mely az általunk vizsgált tórendszerben is jelentős lehet a fenolkoncentráció csökkentésében.

Az általunk vizsgált környezetekben fellelhető heterotróf mikroorganizmusok közül a legtöbb szaprotróf életmódot folytat, de kimutattunk bakteriális predátorokat is (*Peredibacter* nemzetség). Az előbbieik között aerob és anaerob légzők, valamint fermentációt végző organizmusok találhatók, de a metanogén archaeák közül is azonosítottunk anaerob légzőket tartalmazó nemzetségeket, melyek ecetsavat, etilalkoholt és formátot hasznosítanak. A szénkörforgalomban fontos szerepet tölthetnek be a tórendszerben fellelhető fenolszármazékok bontását végző organizmusok is, melyek közül azonosítottunk aerob és anaerob légzőket, valamint fermentáló szervezeteket is (6.1 ábra).

A *Hydrogenophaga* genusz, melynek jelenlétét a BT1B, BT1S, BT4S és BT4W mintákban igazoltuk, széleskörű szénhidrogénbontó képességéről ismert, és kimutattuk a korábban vizsgált, szintén termálvíz befogadására szolgáló Therm-Organ tóból is (Borsodi és mtsai 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012). Fahy és mtsai (2008) igazolták, hogy egy *Hydrogenophaga* genuszba tartozó izolátum növekedést mutatott benzénen és toluénen, míg részlegesen bontotta az m- és p-xiléneket. Sun és mtsai (2010) nagy molekulásúlyú poliaromás szénhidrogénekkal szennyezett talajmintákat inkubált és azokban a mintákban, ahol igazolódott a PAH-lebontás, molekuláris klónozással azonosította a *Hydrogenophaga* genusz egy fajtát. A *H. flavat* molekuláris klóntárakkal mutattuk ki mindkét üledék- és a BT4-es tó vízmintájából. Főleg heterotróf anyagcserét folytat és az egyetlen fajként ismert, mely képes lebontani a benzén oxigénát metil-terc-butil-étert (MTBE) (Hatzinger és mtsai 2001). A *Hydrogenophaga taeniospiralist* (Lalucat, Pares, és Schlegel 1982; A. Willems és mtsai 1989a) a BT3-as tó üledékéből izoláltuk. Ugyanezen faj IA3-A-es törzsét fenil-benzollal (bifenillel) szennyezett talajból izolálták és bebizonyosodott,

hogy képes poliklórozott fenil-benzolt, egyedüli szén-, és energiaforrásként hasznosítani, valamint más tápanyag jelenlétében is aktívan bontani (Lambo és Patel 2006). A faj jelenléte az általunk vizsgált tőrendszerben hozzájárulhat ahhoz, hogy a tározási idő végére a fenolszennyezés a vízminőségi határérték alá csökkenjen, amit a vízkémiai vizsgálataink igazoltak.

A tőrendszerből a *Bacillus* nemzetség több fajt sikerült tenyésztésbe vonnunk; ezek közül a *B. cereus*-ról – melyet 15 példányban izoláltunk – ismert, hogy alkalikus körülmények között képes fenolszennyeződések lebontására (Kanekar, Sarnaik, és Kelkar 1998).

Szintén tenyésztéses vizsgálatokkal mutattuk ki a *Micrococcus* nemzetség két fajt. Ismert, hogy a nemzetségben vannak organizmusok, melyek alkalikus körülmények között (pH 10) voltak képesek a fenol bontására (Kanekar, Sarnaik, és Kelkar 1998). A BT4S mintából vontunk tenyésztésbe két *Arthrobacter* fajt is, ez a genusz szintén azok közé a csoportok közé tartozott a fenti tanulmány szerint, melyek képesek a fenol lebontására pH 10 mellett.

A *Flavobacterium* nemzetség képviselőiről ismert a pentaklorofenol lebontásának a képessége (Saber és Crawford 1985), valamint a Frankiales rend egy leírt fajokat nem tartalmazó nemzetségéről (AB021325) – melyet a BT4-es tó vizéből azonosítottunk – ismert, hogy fenolt lebontó reaktorokból került először izolálásra (Watanabe, Teramoto, és Harayama 1999).

A *Marinobacter* nemzetség tagjai szalinikus körülmények között (5% NaCl) képesek a fenoloidokat és többféle szénhidrogént aerob módon bontani (Gauthier és mtsai 1992; Jiang és mtsai 2016), mi a BT1B mintából mutattuk ki. Szintén aerob körülmények között végezhet szénhidrogénlebontást a főleg a vízmintákból kimutatott *Porphyrobacter* nemzetség. A genuszgenusz tagjai aerob, kemoheterotróf organizmusok, és van olyan képviselőjük is, mely képes a bifenil és a dibenzofurán lebontására, és egyedüli szénforrásként való hasznosítására (Fuerst és mtsai 1993, Hiraishi és mtsai. 2002). Valószínűsíthető, hogy ezek a szervezetek enzimmészletüknek köszönhetően hatékonyan hozzá tudnak járulni a fenolszármazékok lebontásához.

A *Micavibrio* család egyik leírt fajokat nem tartalmazó genuszgenuszát (HQ218617_g) a BT4-es tó üledékéből mutattuk ki, előzőleg ide tartozó szervezeteket poliaromás szénhidrogénnel szennyezett mintából azonosítottak, melyet naftalén jelenlétében inkubáltak, így feltételezhető, hogy ez az alfaproteobaktérium csoport is szerepet játszhat az aromás gyűrű aerob bontásában (Guazzaroni és mtsai 2013), az utóbbi csoportot a BT4-es tó üledékéből azonosítottuk.

A *Dietzia* nemzetség tagjai – melyeket az üledékmintákból vontunk tenyésztésbe – szintén szénhidrogénbontó képességeikről ismertek, esetenként aromás szénhidrogének aerob bontására is képesek egyedüli szénforrásként (Kojima és mtsai 2002; Wang és mtsai 2011).

A *Glycocalis* genuszgenusz tagjait mutatták ki korábban petróleummal szennyezett szalinikus talajból, így feltehető, hogy az általunk a BT4S mintából azonosított szervezet is részt vehet szénhidrogének aerob bontásában (Lv és mtsai 2014).

A *Filomicrobium insigniet*, melyet a BT1B mintából azonosítottunk, először egy – az általunk vizsgált környezethez hasonló kémiai paraméterekkel jellemezhető – Kelet kínai olajmező olajjal szennyezett sós talajából izoláltak (Wu és mtsai 2009), így feltehetően ez a szervezet is szerepet játszhat szénhidrogénszármazékok lebontásában.

Szintén a rendbe tartozik a tenyésztéssel a BT4-es tó üledékéből kimutatott *Sphingomonas olei* – mely képes alifás szénhidrogének (oktadekán, eikozán és dokozán) lebontására. Először Nepálban izolálták, olajjal szennyezett talajból (Chaudhary és Kim 2017). Feltételezzük, hogy ez a faj is szerepet játszhat a tóba kerülő szénhidrogénszármazékok lebontásában.

A tavak üledékéből és egy biofilm mintából mutattuk ki az *Azoarcus* nemzetség tagjait, melyek anaerob nitrátlégzést folytatnak és számos aromás szénhidrogénszármazék lebontására képesek azáltal, hogy fumaráttal oxidálják az aromás gyűrűt (Mechichi és mtsai 2002).

Azonosítottuk továbbá az *Alishewanella* genuszgenuszt a BT1-es tó vizéből és a BT4-es tó üledékéből. Ismert egy fajuk – az *Alishewanella solinquinati* –, mely különböző poliaromás alapmolekulájú textilfestékek lebontására, és azok szénforrásként való felhasználására is képes (Kolekar és mtsai 2013). Ez alapján nem zárhatjuk ki, hogy ezek a szervezetek is részt vehetnek a tórendszerben lévő fenolszármazékok lebontásában. Ezt a nemzetséget szintén a Therm-Organ tóból is kimutattuk (Borsodi és mtsai 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012). A Therm-Organ tóból is azonosított, anaerob, fenolbontó baktériumokat is tartalmazó *Spirochaeta* genuszgenusz is megtalálható volt a Barex tórendszer üledékmintáiban.

Az *Acidovorax delafieldii* (Willems és mtsai 1990), melyet a BT2-es tó üledékéből izoláltunk, egyedüli szénforrásként is képes PHB-t (polihidroxibutirátot) alkalmazni, mely a biológiai úton bontható műanyagok egyik fajtája, de a nemzetség jelenlétét többször leírták szénhidrogénekkel szennyezett környezetekből is (Singleton, Ramirez, és Aitken 2009).

A *Thermovirga* nemzetség (Synergistales rend) tagjait csak a BT4-es tó üledékéből készült amplikontárban találtuk meg. Ezt a genuszgenuszt először az Északi-tengerben található olajrezervoárokból származó kitermelési vízmintákból azonosították, így valószínűsíthetően ez a csoport is végezhet szénhidrogénlebontást.

A disszimilatórikus szulfátredukálók közül, irodalmi adatok alapján több nemzetség is rendelkezett aromás szénhidrogének lebontására szolgáló enzimmészettel; kemoorganotróf

anyagcsere esetén az üledékmintákból azonosított *Desulfatiglans* nemzetség tagjai elektrondonorként hasznosítanak fenol- és benzoátszármazékokat (Suzuki és mtsai 2014), míg a *Desulfosarcina* genuszgenusz baktériumai benzoátokat használhat elektrondonorként (Kuever, Rainey, és Widdel 2013). A *Pelobacter* nemzetség tagjai galluszsavat és egyéb trihidroxibenzéneket fermentálnak (Schink és Pfennig 1982), a *Syntrophus* (Mountfort és mtsai 1984) benzoátok; a *Syntrophorhabdus* (Qiu és mtsai 2008) fenolszármazékok és egyéb monoaromás vegyületek szintróf oxidációját végezhetette a tavak üledékeiben, az utóbbi nemzetség jelenlétét a Therm-Organ tóban is igazoltuk, ahol szintén fenolvegyületek bontását végezhetette (Borsodi és mtsai 2016; Borsodi, Szirányi, és mtsai 2013; Szirányi 2012).

A Barex-tórendszer baktériumközösségeinek monoaromás vegyületeket hasznosítani képes tagjai csak részben egyeztek meg a közeli, Therm-Organ tóból azonosított, feltételezhetően fenolbontást végző szervezetekkel. A Barex tavakból hiányoztak a Therm-Organ tóból kimutatott *Thauera*, *Alkaliflexus*, *Achromobacter* és *Dehalococcoides* nemzetségek, valamint a *Dehalogenimonas* genuszgenusz, mely csak rendkívül alacsony relatív abundanciával (0,0004) volt megtalálható a BT4S mintában. Emögött az állhat, hogy a Therm-Organ tavat más termelőkutak vize táplálta, melyek kémiai tulajdonságai hasonlóak, de nem azonosak a Barex rendszert tápláló kutakhoz képest. Az előbbi esetében a környezet is rendkívül különböző volt, mivel egy kisebb tavakból álló tórendszer helyett a Therm-Organ tó egy egybefüggő, konvex vízfelszínnel rendelkezik, mely a mikrobióta szukcesszióját befolyásolhatja. Lehetséges, hogy a Therm-Organ tó vize több oldott állapotban maradt fenolt tartalmazott, a tó nyáron markáns fenolszaggal rendelkezett.

6.3.2 Nitrogén körforgalom

A tóvíz fizikai és kémiai vizsgálatait során a szervesetlen nitrogén nagyrészt ammóniumion formájában volt jelen, míg az egyéb szervesetlen nitrogénformák (nitrit, nitrát) minimálisnak bizonyultak (5.2-es ábra). Mivel az ammónium koncentrációja mindkét vizsgált évben a koratavaszi magas értékekről júliusra a töredékére csökkent, és a júliusi és szeptemberi mérés között csökkenés már nem volt tapasztalható, valószínűsíthetjük, hogy a Barex-tórendszerben a nitrifikáló szervezetek dominanciája tavasz végére eshetett. A részletesebb filogenetikai vizsgálataink (molekuláris klón- és amplikontárak létesítése) júliusban és szeptemberben történtek a két évben, így ezzel magyarázható, hogy nitrifikáló szervezetek jelenlétét csak minimálisan tudtunk kimutatni, rendkívül alacsony relatív abundanciával. A Nitrospirales osztály tagjait a tavak üledékéből azonosítottuk mindkét évben, de olyan kevés szekvenciával, hogy ezen szervezetek tevékenysége

a vizsgált időpontban nem okozhatott számottevő változást a tó nitrogénháztartásában. Ammónia oxidáló archaeák találhatóak a Nitrososphaeria osztályban, melyet az AC_BT1S molekuláris klóntárból mutattunk ki csupán 0,0112-es relatív abundanciával, 2012 szeptemberében. Jelentős csökkenést okozhatott az ammónium koncentrációban az asszimiláció is; a szerves nitrogénvegyületek koncentrációja a tavakban fordítottan volt arányos az ammónium koncentrációjával; jelezve, hogy a mikroorganizmusok beépítették. A nitrifikációt végző szervezeteket érzékenyek a szervesanyag termelésre, valamint nagy részük aerob, így nyár közepe-vége táján emiatt is eshetett le a számuk az alig kimutatható értékre a Barex tározórendszerben.

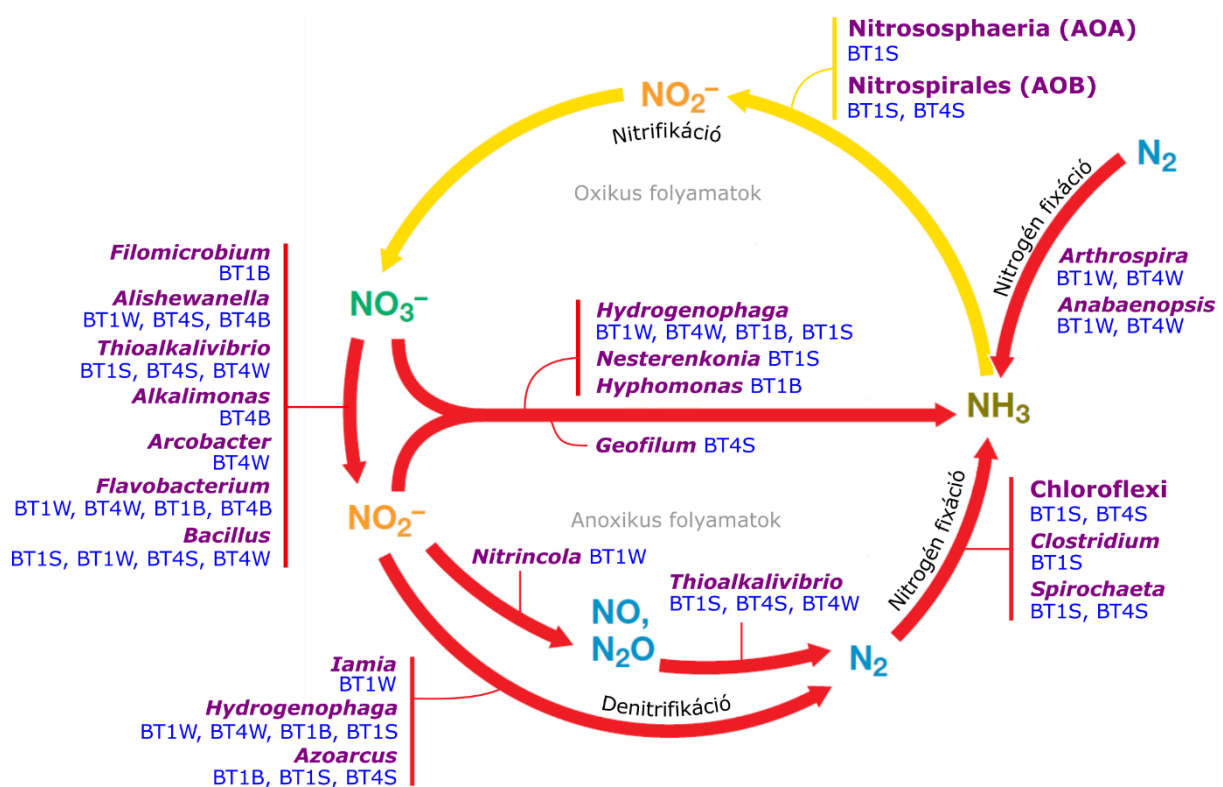


Figure 16.2 ábra – A Barex-tórendszer nitrogén-körforgalmában résztvevő taxonok, és kimutatási helyük, tevékenység szerint. A sárga nyilak az oxidációt, a piros nyilak a redukciót jelölik. Az asszimiláció és az ammonifikáció folyamatit ezen az ábrán az átláthatóság céljából nem tüntettük fel. Az ábra alapjául szolgáló grafika Madigan és mtsai (2015) által szerkesztett tankönyvből származik.

Sok nitrátredukcióra képes szervezetet azonosítottunk a vizsgált mintákból, melyek között előfordultak nitrátlégző (ezen belül denitrifikáló) szervezetek is (6.2 ábra). A BT1-es tó biofilmjében lévő molekuláris klóntárban a szekvenciák 10%-a mutatott nagyfokú szekvencia egyezést a nitrát- és nitritredukcióra, valamint ammóniatermelésre is képes *Hyphomonas polymorpha* fajjal (Moore, Weiner, és Gebers 1984). Csak a BT1-es tó üledékéből izoláltuk egy példányban az az ammóniatermelő *Nesterenkonia sandarakina* közeli rokonát (W. J. Li, Chen, és mtsai 2005).

Az *Azoarcus* nitrátot és nitritet, valamint oxigént is elfogad elektronakzeptorként anaerob nitrátlégzésben, a *Hydrogenophaga* nemzetség tagjai kemoorganotróf vagy kemolitotróf életmódot folytatnak, utóbbi esetben a hidrogén oxidációjával jutnak energiához. Kemoorganotróf anyagcsere során oxigént használhatnak terminális elektron akzeptorként, vagy heterotróf denitrifikációt végezhetnek. Különböző mintatípusokból és eltérő módszerekkel is kimutattunk több nitrátredukáló nemzetség jelenlétét. Az *Alishewanella* nemzetség fajai nitrátot redukálnak, a molekuláris klónozással kimutatott Az *A. jeotgali* egy fakultatív anaerob nitrátredukáló szervezet, mely tioszulfátot is elfogad elektron akzeptorként (M.-S. Kim és mtsai 2009). A *Flavobacterium* genuszgenuszba főleg aerob vagy fakultatív aerob kemoorganotróf szervezetek tartoznak, melyek anaerob légzésben nitrátot képesek redukálni. A BT4-es tó üledékéből tenyésztésbe vont *Bacillus alkalisediminis* csak aerob körülmények között végez nitrátredukciót (Borsodi, Pollák, és mtsai 2011). A *Filomicrobium*, az *Arcobacter*, az *Alkalimonas*, és a *Thioalkalivibrio* nemzetség tagjai is nitrátredukciót végeznek, a *Nitrincola* genuszgenusz tagjai nitritet hasznosíthatnak elektronakzeptorként, ha oxigén nem áll rendelkezésre (Dimitriu és mtsai 2005), miközben a fakultatív anaerob *Geofilum* nitrátot és nitritet is képes redukálni (Miyazaki és mtsai 2012). A *Iamia* a BT4-es tó vizében nitrátot teljes denitrifikációban elemi nitrogénné képes alakítani, mely hatékony nitrogénelnyelőként működhet ezen az élőhelyen, visszajuttatva a nitrogént gázként a légkörbe (Kurahashi és mtsai 2009).

A tórendszerben található össznitrogén mennyisége azonban a tározási idő végére növekedett, különös tekintettel a nagyobb vízfelületű tavakra, melyekben a nitrogénfixáló szervezetek játszottak szerepet. A légköri nitrogén fixálását csak kevés diazotróf szervezet végzi, melyek a vizsgált tórendszerben főleg cianobaktériumok; az *Arthrospira* és az *Anabaenopsis* nemzetségek tagjai (Ballot és mtsai 2008), de kisebb mértékben anaerob diazotrófok; a *Chloroflexi* törzs, valamint a *Spirochaeta* és a *Clostridium* nemzetségek tagjai is részt vehetnek ebben a folyamatban bár számuk sokkal alacsonyabb, volt, mint a cianobaktériumoké.

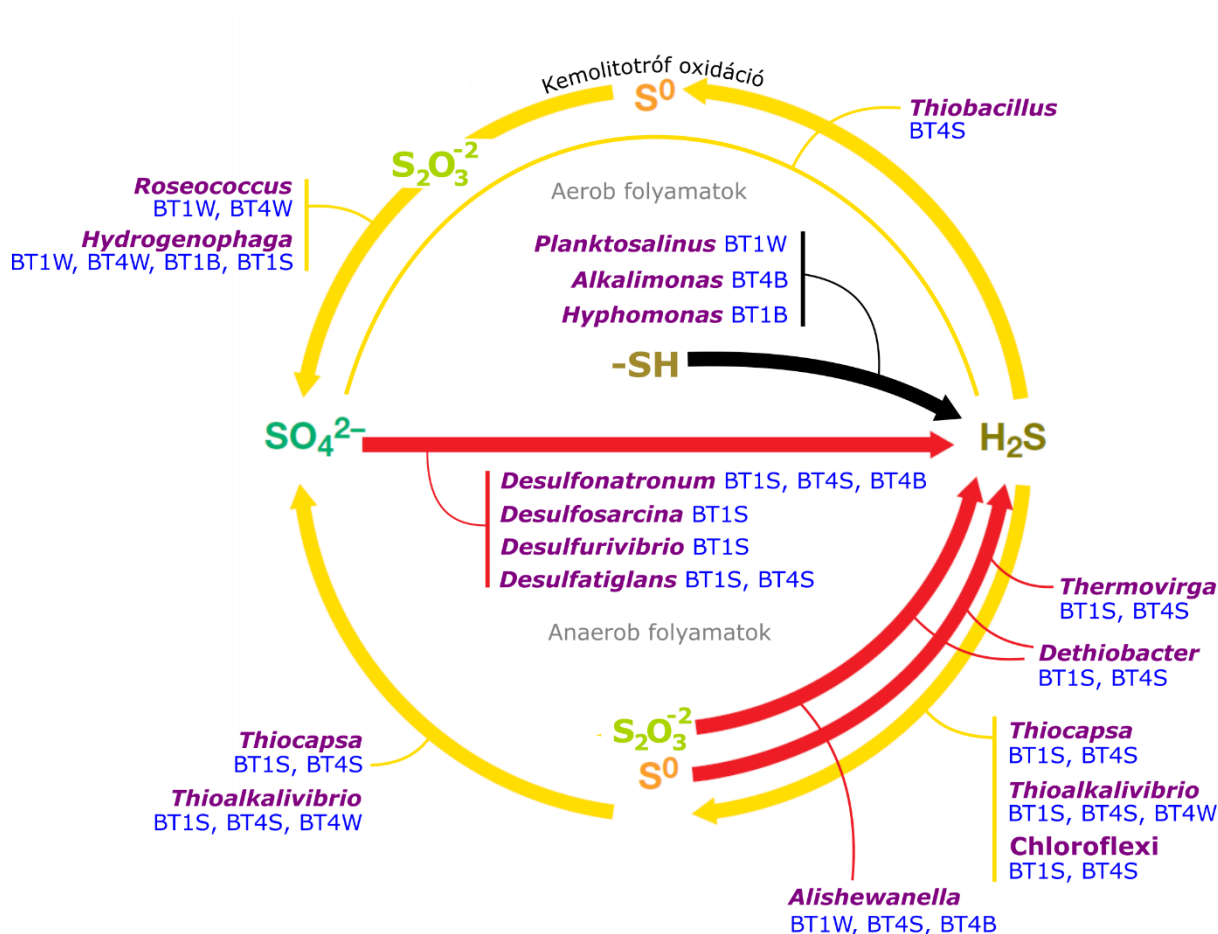
6.3.3 Kén körforgalom

A kénformák koncentrációját nem követtük nyomon a vízminták vizikai és kémiai vizsgálatain során, ám több olyan mikroorganizmust azonosítottunk, melyek szerepet játszhatnak a kénkörforgalomban. A tórendszerben számos szulfátredukáló szervezet él, melyek főleg az üledékben és a biofilm mintákban voltak megtalálhatók. Deltaproteobaktérium nemzetségek jelenlétét is igazoltuk, melyek disszimilatórikus szulfátredukciót folytatva elemi kénig, vagy kénhidrogénig redukálhatják szulfátot, a szulfitot és a tioszulfátot. Ezek közé tartoztak a

Desulfonatronum és a *Desulfatiglans*, valamint a *Desulfosarcina* és a *Desulfurivibrio* genuszgenuszok is, melyeket jellemző módon a tavak üledékéből mutattunk ki (Pikuta és mtsai 2003; Sorokin, Tourova, és Muyzer 2013).

Piroszekvenálással számos anaerob légző, disszimilatórikus szulfátredukáló nemzetség nemzetség jelenlétét igazoltuk a BT1-es és BT4-es tavak üledékéből (*Desulfatiglans*, *Desulfurivibrio*, *Desulfosarcina*, *Desulfonatronum*). Ezek a mezofil, obligát anaerob szervezetek szulfátot és más szervesetlen kénvegyületeket hasznosítanak elektron akceptorként, miközben elektron donorként szerves vegyületeket, melyeket teljesen széndioxidig oxidálnak (Suzuki és mtsai 2014).

A Desulfobacterales rend *Desulfosarcina* nemzetsége egy nagyságrenddel gyakoribb előfordulású volt a tórendszer első tavának az üledékéből készült amplikontárakban, mint a



6.3 ábra – A Barex-tórendszer kénkörforgalmában résztvevő taxonok, és kimutatási helyük, tevékenység szerint. A sárga nyilak az oxidációt, a piros nyílak a redukciót jelölik. Az ábra alapjául szolgáló grafika Madigan és mtsai (2015) által szerkesztett tankönyvből származik.

negyedik tóban. Ebbe a genuszgenuszba tartozó szervezetek főként kemolitotróf-autotróf életmódot folytatnak hidrogént használva elektron donorként, de kemoorganotrófia is ismert a genuszgenuszban; ilyenkor szerves savakat, alkoholokat, benzoátokat hasznosítanak elektron

donorként. A szulfátot kénhidrogénig redukálják, melyet a tőrendszerből szintén kimutatott kénbaktériumok hasznosíthatnak. Elektron akceptor hiányában fermentáció révén is képesek lassú növekedésre (Kuever, Rainey, és Widdel 2013).

Szintén a Desulfobacterales rendbe tartozik a *Desulfurivibrio* nemzetség, melynek képviselőit kis számban csak a BT1-es tó üledékéből azonosítottuk. Ezen organizmusok anyagcseréje hasonló az eddig említett szulfátredukálókhöz, azonban nem képesek szerves elektrondonoraikat teljesen eloxidálni, ecetsavat képeznek (Le Faou és mtsai 2002).

A *Hyphomonas*, az *Alkalimonas* és a *Planktosalinus* nemzetségek tagjai heterotróf, aerob organizmusok, melyek feltehetőleg deszulfurilációval termelnek szerves anyagokból H_2S -t, ezek elsősorban vízi és a biofilm mintákban megtalálható szervezetek voltak (6.3 ábra).

A BT1-es és BT4-es tó üledékében és biofilmjében fordultak elő a zöld nemkén baktériumokat magába foglaló Chloroflexi filogenetikai törzs tagjai, melyek fotoautotrófiában hasznosíthatnak kénhidrogént elektrondonorként. Szintén kénhidrogént (H_2S), vagy tioszulfátot ($S_2O_3^{2-}$) hasznosítanak elektron donorként anoxikus fotoszintézisükhöz a *Thiocapsa* nemzetség bíbor kénbaktériumai, melyek képesek elemi kén (S^0) granulákat tárolni a sejtjeiken belül a periplazmatikus térben. Mi ezt a nemzetséget az amplikontárakban azonosítottuk a BT1-es és a BT4-es tavak üledékéből. Ezek a fajok tipikusan üledékekben és mikrobiális bevonatokban fordulnak elő, ahol anoxikus a környezet és elérhető a kénhidrogén (Caumette, Baulaigue, és Matheron 1991). *Thioalkalivibrio* genuszgenusz tagjai szintén anoxikus fototrófiát végző bíbor kénbaktériumok, azonban a kéngranulumonatot a sejten kívül halmozzák fel, mi a BT1-es tó és a BT4-es üledékéből mutattuk ki, de a nemzetség jelen volt BT4-es tó vizében is. Néhány fajuk a nitrátot nitritté képes alakítani mikroaerob körülmény között, sok fajuk tiocianátból asszimilál nitrogént. Egy fajuk képes anaerob körülmények között dinitrogén-oxidot (N_2O) hasznosítani elektron akceptorként, miközben tioszulfát az elektron donorja (Sorokin és mtsai 2001).

Tioszulfátot hasznosítanak energiaforrásként a *Roseococcus* nemzetség tagjai, valamint a *Hydrogenophaga* genuszgenusz képviselői is képesek a tioszulfát szulfáttá oxidálására. A *Thiobacillus thioparus* faj 16S rRNS génjével mutatott nagy hasonlóságot a BC_BT4S molekuláris klóntár szekvenciáinak 2,5%-a. Ez az aerob, kemolito-autotróf kénbaktérium képes a kénhidrogént (H_2S), az elemi kén (S^0), a tiocianátot (^-SCN), és a tioszulfátot ($S_2O_3^{2-}$) elektrondonorként hasznosítani és oxidálásukkal energiát konzerválni (Cho, Hirai, és Shoda 1991; Oyarzún és mtsai 2003). Nagy valószínűséggel az BT4-es tó üledékében élő szulfátredukáló szervezetek anyagcsere végtermékeit pl. a *Thiobacillus thioparus* tudja hasznosítani.

Az *Alishewanella jeotgali* a tioszulfátot elektronakceptorként fogadja el, miközben a *Dethiobacter* a tioszulfát mellett elemi ként is képes elektron akceptorként hasznosítani; a tioszulfát redukciója esetén szulfitot képez intermediereként és szulfidot végtermékként. Elektronodonorként hidrogént, vagy rövid szénláncú zsírsavakat hasznosít és képes lehet autotrófiára is. (Sorokin és mtsai 2008). A *Thermovirga* nemzetség tagjai ciszteint, és elemi ként redukálnak kénhidrogénné (Dahle és Birkeland 2006).

A *Roseococcus* nemzetséggel nagy szekvenciaegyezést mutató amplikonokat mindkét tóvízmintából kimutattunk. Ezek az obligát aerob organizmusok kemoorganotróf vagy fakultatív fotoheterotróf életmódot folytatnak, egyes képviselőik képesek a tioszulfát energiaforrásként való hasznosítására is (Yurkov és mtsai 1994).

7. Összegzés

Vizsgálataink során feltérképeztük a Szarvas város közelében fekvő és a Barex Kft. kezelésében lévő, használt geotermális vizek befogadását szolgáló, négy egymással csatornákon keresztül összekapcsolt tározó tórendszer vízminőségét, valamint mikrobiotájának mennyiségi viszonyait, térbeli és időbeli változásait, szerkezetét és összetételét. A mikrobiális közösségszerkezetet tenyésztéssel és tenyésztéstől független, molekuláris módszerekkel tártuk föl. Ehhez 2012 és 2013 során összesen hét alkalommal vettünk tóvízmintákat, két alkalommal befolyó csurgalékvíz mintákat, három alkalommal biofilm mintákat, valamint hat alkalommal üledékmintákat. A tóvíz fizikai és kémiai tulajdonságait 3-3 alkalommal vizsgáltuk mindkét évben; tavasszal, nyáron és kora ősszel. Munkánk során részletesen elemeztük a mikrobiális közösségek összetételét; 2012 szeptemberében molekuláris klónozással, mely kiterjedt a tóvíz-, a biofilm-, valamint az üledékmintákban előforduló Bacteria és Archaea domén tagjaira, míg 2013 júliusában a víz- és üledékmintákat piroszekvenálás révén amplikontárak létesítésével.

A vízminőségi vizsgálatok alapján a tározórendszer első és negyedik tava között nagyobb különbségeket fedeztünk fel, a KOI_k , a BOI_5 és a fenolindex mind magasabbak voltak az első tó vizében, mint a negyedik tóban. Az utóbbiban magasabb volt az oxigénkoncentráció a cianobaktériumok tevékenysége miatt. A tározási idő végére a tavak között csökkentek a vízminőségbeli különbségek, viszont a negyedik tavat magasabb pH és vezetőképesség jellemezte a párolgás miatti töményedés eredményeképpen, mely a szárazabb 2012-es évben sokkal kifejezettebb volt, mint 2013-ban. A tározótavakban való inkubálás hatására a használt termásvíz fenoltartalma határérték alá csökkent és jelentősen csökkentek a KOI_k , a BOI_5 értékek is, azonban a tározási idő nem volt elég ahhoz, hogy ezek is a határérték alá csökkenhessenek, a szabvány szerinti jó minőségű vizet eredményezve. A szerves nitrogén értékek a tórendszerben tavasztól ősz elejéig a minimumra csökkentek, miközben a szerves nitrogén értékek nőttek; ez arra utal, hogy ezek a vegyületek beépültek a biomasszába. Ezt támasztották alá az epifluoreszcens sejtszám meghatározás eredményei is; október és július között 2,5-szeres sejtszám növekedést regisztráltunk. Az első tó vizében detektáltuk a legkisebb, míg a negyedik esetében a legnagyobb átlagos sejtszám értéket, melyek összecsengnek azon feltételezésünkkel, hogy habár a tórendszer nem lépcsőzetesen töltődik, hanem gravitációsan összekapcsolt, mégis van gradiens a tavak között.

A bakteriális közösségszerkezet változásainak nyomkövetését denaturáló gradiens gélelektroforézissel (DGGE) végeztük el a 2012 márciusában, júliusában és szeptemberében, valamint 2013 áprilisában, júliusában és szeptemberében gyűjtött biofilm, üledék és tóvízminták

bevonásával. A befolyó csurgalékvizet 2012 márciusában és októberében mintáztuk. A DGGE gélek sávmintázata alapján megállapítottuk, hogy a befolyóvízminták közösségösszetétele jelentősen különbözött a tóvízmintáktól. Az utóbbiakra az időpont szerinti és nem a tavak szerinti csoportosulás volt jellemző, emellett a csapadék is befolyásoló tényező volt: a nyári vízminták 2012-ben a tavasziakkal csoportosultak, míg 2013-ban az őszi mintákkal alkottak közös csoportot. A csoportokon belül a legnagyobb különbséget a bakteriális közösségszerkezetben az első és negyedik tóból származó vízminták mutatták, a második és a harmadik tó vízmintái hasonlóak voltak egymáshoz. Az utóbbi az üledékminták esetében is megfigyelhető volt. Az üledékminták esetében jellemzőbb volt a tavak szerinti, mint az évszakok szerinti csoportosulás. A biofilm minták esetében nagy szerepet játszott a szezonális és a különböző mikrokörnyezetek; bár ennek ellenére felfedezhető volt az azonos tóból vett minták hasonlósága. A tározórendszer harmadik tavában, mely 5 méter mély, nem mutattunk ki rétegződést a mikrobiális közösségösszetétel alapján; mivel a tó elég sekély ahhoz, hogy a szél vagy a napi hőingás útján átkeveredhessen. Taxonok szintjén az *Arthrospira* fonalas cianobaktérium bizonyult a tórendszer legabundánsabb nemzetségének; a DGGE vizsgálatok szerint a hidegebb márciusi hónapokat kivéve, egész évben jelen volt a vízmintákban, és az üledékmintákban is nyomonkövethető volt. Mindhárom mintatípusból kimutatható volt a *Hydrogenophaga* genuszgenusz, melynek tagjai az aromás vegyületek bontását is elősegíthetik.

A Barex-tározótavak mikrobaközösségeit a Proteobacteria (ezen belül Beta- és Gammaproteobacteria osztályok), a Bacteroidetes, valamint a vízminták esetében az Actinobacteria és a Cyanobacteria törzsek dominanciája jellemezte. Jelentős volt még a Firmicutes és a Chloroflexi törzsek aránya az első tóból származó üledékmintában, valamint a Fusobacteria a negyedik tó biofilmjében. Az Euryarcheota törzs metanogén ősbaktériumait 2012 szeptemberében mindegyik mintatípusból kimutattuk, azonban 2013 júliusában, amplikontárakkal csak az üledékmintákból azonosítottuk őket.

A tórendszer kezdőpontja (BT1-es tó) és végpontja (BT4-es tó) között a fentiekén kívül is fedeztünk fel különbségeket, a mikrobiális közösségösszetétel szintjén. A nagy felbontású molekuláris vizsgálatok is azt igazolták, hogy a mintatípusok közötti hasonlóság nagyobb volt, mint a mintavételi helyek szerinti. A molekuláris klontárak esetében a filogenetikai rendek szintjén a mintatípusok mutatták egymással a legnagyobb hasonlóságot; az első és a negyedik tó vizéből készült klontárak voltak a leghasonlóbbak, ezt követték az üledékminták egymással egy csoportot alkotva, majd a biofilmminták. A mintatípusok közül az üledék és biofilmminták a diverzebbeknek bizonyultak, mint a vízminták. A piroszekvenálás eredményei is hasonló eredményekre vezettek:

míg az első és a negyedik tó üledékéből és a negyedik tó vizéből készült amplikontárak Simpson 1-D diverzitás megközelítette az 1-et, az első tó vizéből készült amplikontár diverzitás indexe alacsonyabb volt. A mintatípusokon belül a negyedik tóból származó mintákhoz nagyobb fajgazdagság tartozott, mint az első tó mintáihoz, amit a fent említett termálhatás és a beáramló szennyező anyagok nagyobb koncentrációja eredményezhetett. Ez azonban nem volt igaz az első tóból származó üledékmintára, ahol a termálhatás kevésbé befolyásolta a közösségösszetétel alakulását. Az archaea klóntárakban mindegyik mintában alacsonyabb diverzitás volt jellemző, mivel ebben a csoportban a metanogén ősbaktériumok dominanciája számottevő volt a többi szervezettel szemben.

A szennyezőanyagok csökkenése és a töményedés által létrejött alkalikus-szalinikus környezet lehetővé tette, hogy a negyedik tó vizének baktériumközösségei a filogenetikai nemzetségek színjén jobban hasonlítsanak a természetes szikes tavakéra, bár ez a különbség az első tó vizével szemben nem volt számottevő. A *Synechococcus* cianobaktérium és a *Rhodobaca* bíbor nemkén baktérium nemzetségek, valamint a *Nitrliruptor*, a *Porphyrobacter*, a *Pseudospirillum*, a *Salinarimonas*, a *Synechococcus* és a *Thioalkalivibrio* genuszgenuszok - melyeket mind kimutattuk a negyedik tó vízmintáiból különböző módszerekkel, természetes szikes tavakat is jellemző nemzetségek. Magasabb taxonómiai szinten a negyedik tó vizére az Actinobacteria törzs magas részaránya, a Planctomycetales és Cytophagales rendek jelenléte volt jellemző. Mindkét vízmintában számottevő volt a Cyanobacteria filogenetikai törzs aránya, valamint a Proteobacteria törzsön belül a Betaproteobacteria osztály túlsúlya. Az Epsilonbacteraeota törzs (korábban Epsilonproteobacteria osztály) Campylobacterales rendje, csak az első tó vizéből volt kimutatható. Ezzel szemben a Deltaproteobacteria osztály jelenléte az üledékmintákra volt jellemző, a Cloacimonetes rend pedig csak a negyedik tó üledékére.

A vizsgált mintákból számos extremofil (halofil, alkalofil) mikroorganizmust azonosítottunk, melyek életmódbeli adaptációk révén tudtak életben maradni a tórendszer alkalikus-szalinikus vizében és üledékében. Többet ezek közül tenyésztési vizsgálatokkal mutattunk ki. Ezek közé tartozott a *Bacillus* nemzetség több haloalkalofil tagja (*B. simplex*, a *B. cohnii*, a *B. aurantiacus* és *B. alkalisediminis*), melyek esetenként extrém halofil szervezetek, és többet közülük természetes szikes tavakból írtak le. Az *Arthrobacter* és a *Dietzia* nemzetség tagjai szintén extrém halofil szervezetek, miközben a *Paracoccus* és a *Methanocalculus* nemzetségek obligát alkalofilek. A *Rheinheimera*, *Thioalkalivibrio*, *Alkalimonas*, *Planktosalinus* és a *Dethiobacter* nemzetségek alkalikus-szalinikus élőhelyekre jellemzők. Az *Arthrospira* nemzetség kifejezetten sekély, szikes tavakra jellemző cianobaktérium. A tenyésztési vizsgálatok során azonosítottunk két

baktériumtörzset, melyek alacsony szekvencia hasonlóságot mutattak már leírt fajokkal, ez a két törzs a későbbiekben önálló fajként, vagy akár új genuszgenuszként is leírásra kerülhet. A ST_BT3W_212 számú baktériumtörzs 16S rDNS-e, csupán 93,08%-os hasonlóságot mutatott a *Flavobacterium orientale* faj típustörzsével, valamint a ST_BT3S_13 törzs is egy új faj lehet a *Pararhodobacter* genuszgenuszon belül, mivel a legközelebbi tenyésztésbe vont fajjal csupán 96,66%-os hasonlóságot mutatott.

A tavat tápláló használt geotermális víz fenolvegyleteinek koncentrációját a mikrobióta a tározási idő végére sikeresen a határérték alá szorította, ezáltal a fenoltartalomra nézve jó minőségű vizet eredményezve. Több szervezetet is azonosítottunk, melyek szerepet játszhattak a monoaromás szénhidrogének lebontásában. Ezek közül az első tó vizéből kimutatott *Alishewanella*, a negyedik tó vizében megtalálható *Porphyrobacter*, a negyedik tó üledékéből azonosított *Glycocalyx*, az üledékmintákból izolált *Micrococcus* és *Dietzia* genuszgenuszek. Az első tó biofilmjéből kimutatott *Marinobacter* nemzetség, de a számos különböző mintából tenyésztésbe vont *Bacillus cereus* is képes lehetett alkalikus körülmények közötti fenolbontásra. Szintén képesek aromás szénhidrogének bontására a tavak üledékéből és egy biofilmmintából kimutatott *Azoarcus* nemzetség tagjai, valamint az első tó biofilm és üledékmintáiból, valamint a negyedik tó víz és üledékmintáiból azonosított *Hydrogenophaga* genuszgenusz tagjai is. A disszimilatórikus szulfátredukálók a tavak üledékeiben, valamint a fermentációt végző szintróf szervezetek is végezhettek fenolbontást.

Az általunk alkalmazott módszerek összességével kimutatott mikroorganizmusoknak a tórendszer anyagkörforgalmi folyamataiban betöltött szerepére irodalmi adatok alapján következtettünk. A tórendszer szénkörforgalmában az *Arthrospira* és az *Anabaenopsis* nemzetségek végezték a széndioxid fixálás lényegi részét, az előbbi az abundanciája révén is. A tavak üledékében a *Thicapsa*, a *Thioalkalivibrio*, a *Thiobacillus*, a *Desulfosarcina*, a *Desulfonatrum* és a *Dethiobacter* nemzetségek, valamint a *Chloroflexi* filogenetikai törzs tagjai végeztek anaerob széndioxid-fixációt. Szintén széndioxid fixációban játszhattak szerepet az üledékmintákban előforduló metanogén ősbaktériumok.

A nitrogénkörforgásban részt vevők között feltűnő volt a nitrifikáló szervezetek alacsony részaránya, melynek oka az lehetett, hogy ezen organizmusok számára kedvezőtlen életfeltételeket nyújtott a tározótavak magas pH-ja, nagy só- és fenoltartalma. A tórendszer össznitrogén tartalma a tározási idő végére nőtt, melyet a *Arthrospira* és *Anabaenopsis* cianobaktériumok, valamint a *Chloroflexi* törzs tagjainak nitrogénfixáló tevékenysége eredményezett. A többi számos organizmust kimutattunk, melyek képesek a nitrátot nitrálté

redukálni. Ezek mindhárom mintatípusban jelen voltak, többek között az *Alkalimonas*, a *Thioalkalivibrio*, az *Arcobacter* (mely a BT1W-ben nagy relatív abundanciával volt jelen), a *Flavobacterium*, és az *Alishewanella* nemzetségek. A szintén a BT1W-ben abundáns *Iamia*, a mindegyik mintatípusból kimutatott *Hydrogenophaga* és a főleg az üledékekre jellemző *Azoarcus* teljes denitrifikációt végeztek, míg a *Nitrincola* a nitritet redukálta nitrogén-monoxiddá és dinitrogén-oxiddá a BT1W mintában.

A tavak üledékéből négy szulfátredukáló nemzetséget mutattunk ki, ezek a *Desulfonatronum*, *Desulfosarcina*, *Desulfurivibrio* és a *Desulfatiglans* genuszgenuszok voltak. A tioszulfát redukcióját kénhidrogénné a mindhárom mintatípusban jelen lévő *Alishewanella*, valamint az üledékmintákból kimutatott *Dethiobacter* genuszgenuszok tagjai végezhettk. Az utóbbi elemi ként is elfogad elektronakceptorként, míg a *Thermovirga* csak elemi ként fogad el, tioszulfátot nem. A kénhidrogén szulfáttá oxidálását aerob körülmények között egyedül a *Thiobacillus* nemzetség végezte a BT4S mintában, de anoxikus körülmények között ezt a folyamatot a *Thioalkalivibrio* és a *Thiocapsa* nemzetségek tagjai végezhettk. A kénhidrogént elemi kénig oxidálhatták az üledékmintákban jelen lévő *Chloroflexi* törzs tagjai. A tioszulfátot a *Roseococcus* (a vízmintákban) és a *Hydrogenophaga* (több mintatípusban is) nemzetségek tagjai oxidálhatták szulfáttá.

7.1 Következtetések és továbblépési lehetőségek

A geotermális energia hasznosítására Szarvas város környékén valószínűsíthetően továbbra is lesz majd igény, azonban a tározótavas eljárás hátrányai miatt, a felhasználók számának növekedése esetén bizonyosan szükség lesz a visszasajtolásos technológia kiépítésére. Bár a fenolvegyletek a tárolási időszak végére többnyire lebomlanak, és a fenolindex az elfogadott határértékek alá csökken, a tó mikrobiótája nem képes a használt termálvíz magas szervesanyagtartalmát lényegében tehermentesíteni. Vizsgálataink alapján nyár végéig a BOI_5 és a KOI_k értékeiben jelentős csökkenést mértünk, de a biztonságos, hígítatlan elhelyezéshez alacsonyabb vízhozamra, vagy hosszabb tározási időre lenne szükség. Hasonló problémát jelent a sókoncentráció és a pH is, mely a tárolási időszak alatt a párolgás útján való töményedés miatt egyre nő, ezzel a természetes szikes tavakhoz hasonló életteret hozva létre.

A jelenleg alkalmazott tározótavakban bioaugmentáció révén fokozni lehetne a fenolvegyletek bontásának hatékonyságát. Ennek megtervezéséhez azonban a mikrobióta összetételének ismerete elengedhetetlen.

A Barex-tározórendszer és a környező hűtő-tározó tavak vizsgálatainknak hasznos következő lépése lehetne a funkciógének vizsgálata, melyre a mikrobióta teljes genom szevenálása adhatna lehetőséget, ezáltal még közelebb juthatnánk a tóban zajló tényleges lebontási folyamatok hátterének megismeréséhez.

8. Kivonat

A geotermális vizek használat utáni elhelyezése hazánkban több helyen még nem megoldott, annak ellenére, hogy Magyarország egyedülálló geotermális adottságokkal rendelkezik. Átmeneti megoldást jelent a kinyert termálvizek tározótavakban történő inkubációja a felszíni víztestekbe való visszaengedés előtt. Jelen kutatás témájául a Szarvas városának közelében fekvő Barex tározótó rendszert választottunk, mely négy egymással sorbakapcsolt tóból áll, és három termálkút vizét fogadja be, melyek hőtartalmát előzetesen energetikai célokra hasznosították. A célunk volt, hogy megismerjük a fizikai és kémiai paraméterek változását a tórendszer tavaiban (BT1, BT2, BT3, BT4), valamint, hogy feltárjuk a tavak vizének, üledékének és a tavi biofilmeknek a mikrobiális közösségszerkezetét, kitérve a tér- és időbeli változásokra. Kutatásainkat 2012 és 2013 között különböző módszerekkel (denaturáló gradiens gélelektroforézis - DGGE, direkt sejtszám meghatározás, tenyésztés, molekuláris klónozás, piroszekvenálás) végeztük. A tavak vize – a fizikai és kémiai paraméterek vizsgálata alapján – magas sótartalmú ($3560\text{--}8860\text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$) és alkalikus (pH 8,7-9,9) volt, nagy szervesanyag terheléssel (BOI: $5,8\text{--}405\text{ mg dm}^{-3}$, KOI: $154\text{--}676\text{ mg dm}^{-3}$). Emellett a tóvízre az oldott szénhidrogének, főleg a fenol és vegyületeinek határérték feletti koncentrációja ($0,12\text{--}6,08\text{ mg dm}^{-3}$) volt jellemző, melyet a tározási időszak végére a mikrobióta nagy részben lebontott. Emellett az oxigéntelítettség nőtt és a szervesetlen nitrogén mennyisége csökkent a tározási időszak végére a mikrobiális aktivitásnak köszönhetően.

Vizsgálataink során megállapítottunk, hogy a tórendszer tavai között – a sorbakapcsoltság ellenére – létrejött egyfajta gradiens; a termál csurgalékvíz belépési helyéül szolgáló BT1-es tó nagy szervesanyag terheléssel és fenolindexszel rendelkezett, míg a végpontként szolgáló BT4-es tó a tározás során a nagy vízfelülete miatti párolgás miatt betöményedett, magas pH-t és nagy sótartalmat eredményezve. A direkt sejtszám meghatározás alapján a BT1W mintában feleannyi prokarióta szervezetet számoltunk, mint a BT4W mintában. A DGGE vizsgálatok alapján a mikrobiális közösségszerkezetben a tavak között kisebb különbségek voltak megfigyelhetők; a vízminták inkább a mintavételi időpont, mint a mintavételi hely szerint csoportosultak. Az üledékminták esetében ez a trend ellentétes volt, a mintavétel helyszíne befolyásolta jobban a közösségszerkezet alakulását. A tórendszerben a vizsgált időszak alatt az *Arthrospira* és a *Hydrogenophaga* genuszgenuszok végig kimutathatók voltak mindegyik mintatípusból, az előbbi a koratavaszi minták kivételével a tórendszer legabundánsabb nemzetségének bizonyult, mely közvetetten (oxigéntermelése, nitrogénfixációja és foszforforgalmi szerepe révén) fontos lehetett a szerves szennyezők lebontásában.

A mikrobiális közösségszerkezetet a filogenetikai törzsek szintjén a Proteobacteria (ezen belül Beta- és Gammaproteobacteria osztályok), a Bacteroidetes, valamint a vízminták esetében az Actinobacteria és a Cyanobacteria törzsek dominanciája jellemezte. Jelentősebb törzsek voltak még a Firmicutes és a Chloroflexi a BT1S mintában, valamint a Fusobacteria a BT4-es tó biofilmjében. Az Euryarcheota törzs metanogén ősbaktériumait szintén a legtöbb mintatípusból kimutattuk. A tóvíz alkalikus és szalinikus körülményeihez számos, korábban természetes szikes tavakból kimutatott extrémofil szervezet alkalmazkodott. A már említett *Arthrospira* genuszgenuszon kívül több haloalkalofil *Bacillus* fajt, az extrém halofil *Arthrobacter* és a *Dietzia* nemzetségek tagjait, és az obligát alkalofil *Paracoccus* és a *Methanocalculus* nemzetségeket is azonosítottuk. Kimutattuk a *Rheinheimera*, *Thioalkalivibrio*, *Alkalimonas*, *Planktosalinus*, *Pararhodobacter*, *Rhodobaca* és a *Dethiobacter* nemzetségek képviselőit is, melyek természetes (pl. Kelet-afrikai árokrendszer vagy a Kiskunsági Nemzeti Park) sekély, szikes tavakban is gyakran előfordulnak. A fenolvegyületek lebontásában feltehetőleg a *Hydrogenophaga*, az *Alishewanella*, az *Azoarcus*, a *Marinobacter* a *Porphyrobacter*, a *Micrococcus* és a *Dietzia* nemzetségek tagjai játszhattak fontos szerepet, melyek inkább az üledékmintákra voltak jellemzők, de mindegyik mintatípusban megtalálhatóak voltak és jellemző volt a relatív abundanciájuk csökkenése a tározási idő vége felé.

Számos szervezetet azonosítottunk, melyek feltehetőleg kulcsszerepet játszottak a tórendszer elemkörforgalmi folyamataiban. Az *Arthrospira* széndioxid és nitrogénfixációban betöltött szerepe lehetett jelentős, a *Methylobacterium* volt az egyetlen detektált metanotróf nemzetség, négy szulfátredukáló genuszgenuszt (*Desulfonatronum*, *Desulfosarcina*, *Desulfurivibrio* és *Desulfatiglans*) is kimutattunk, melyek képesek aromás vegyületek bontására. A *Iamia*, a *Hydrogenophaga* és az *Azoarcus* nemzetségek tagjai denitrifikációt végezhetnek, míg a *Thiobacillus*, *Thiocapsa* és a *Thioalkalivibrio* genuszgenuszok a kénhidrogén szulfáttá oxidálásában játszhattak szerepet.

9. Abstract

The safe disposal of used geothermal waters is not satisfactorily resolved until now in several places of Hungary, despite the fact that the country has a unique geothermal potential. As a workaround, the used thermal water is redirected to reservoir lakes where it is incubated before being released to natural water bodies. The subject of our investigations was a reservoir lake system (Barex lakes) consisting of four interconnected lakes and located near the city of Szarvas. The system accommodates the used composite water of three production wells, whose heat is previously used for energetic purposes. Our aim was to follow the changes of the physical and chemical variables of the lake waters in the reservoir system (BT1, BT2, BT3, BT4). The microbial communities of water, sediment and biofilm samples from the lakes were also examined, addressing the spatial and temporal changes. Our studies were conducted between 2012 and 2013 using different methods (denaturing gradient gelelectrophoresis – DGGE, direct cell enumeration, cultivation, molecular cloning and pyrosequencing). The water of the four lakes – based on the assessment of physical and chemical characteristics – was alkaline (pH 8.7-9.9), of high salt concentration ($3560\text{--}8860\ \mu\text{S cm}^{-1}$) and organic load (BOD: $5,8\text{--}405\ \text{mg dm}^{-3}$, COD: $154\text{--}676\ \text{mg dm}^{-3}$). The concentration of dissolved hydrocarbons, especially phenol and its derivatives were above the limit for hydrocarbons which at the end of the storage period was degraded by microorganisms. In addition, by the end of the storage period, due to microbial activity oxygen saturation increased and the amount of inorganic nitrogen decreased.

We found a sort of gradient between the lakes of the reservoir system, despite their interconnectedness. In lake BT1 organic matter and phenol loads were higher where the thermal water inflow entered, while the end-point (BT4) became more concentrated upon evaporation during storage due to its large water surface, resulting in high pH and salinity values. The number of microorganisms in the BT1W sample was found to be a magnitude smaller than that of the BT4W sample. Based on the DGGE analysis, there were smaller differences in the microbial community structure among the lakes; the water samples were grouped on the basis of sampling times rather than sampling sites. In the case of sediment samples this trend was the opposite, the sampling site had a greater influence on the community structure. The genera *Arthrospira* and *Hydrogenophaga* were detected throughout the studied period in all sample types. *Arthrospira* was determined as the most prominent genus of the lake system (with the exception of the samples from early spring), which indirectly (due to its oxygen production, nitrogen fixation and its role in the phosphorus cycling) could play an important role in the degradation of organic pollutants.

The microbial community structure at the phylum level was characterized by the dominance of Proteobacteria (classes Beta and Gammaproteobacteria), Bacteroidetes, and in the case of water samples, by phyla Actinobacteria and Cyanobacteria. Firmicutes and Chloroflexi were also found to be among the most notable phyla in the BT1S sample and Fusobacteria in the biofilm sample of the BT4 lake. Methanogenic taxa of the Euryarcheota phylum were also detected from most sample types. Many extremophiles adapted to the alkaline and saline conditions of the reservoir lakes were also found in natural saline or soda lakes. In addition to the aforementioned *Arthrospira* genus, several haloalkalophilic *Bacillus* species, extreme halophilic *Arthrobacter* and *Dietzia* genera, and the obligate alkalophilic *Paracoccus* and *Methanocalculus* genera were identified. Members of genera *Rheinheimera*, *Thioalkalivibrio*, *Alkalimonas*, *Planktosalinus*, *Pararhodobacter*, *Rhodobaca* and *Dethiobacter* were also detected, which occur naturally in shallow, saline ponds (e.g., located in the East-African Gregory Rift and the Hungarian Kiskunság National Park). The genera *Hydrogenophaga*, *Alishewanella*, *Azoarcus*, *Marinospirillum*, *Porphyrobacter*, *Micrococcus* and *Dietzia* might have played an important role in the biodegradation of phenolic compounds which were more typical of the sediment samples, but they were found in every sample type and were characterized by a decrease in their relative abundance towards the end of the storage period.

A number of prokaryotes that are likely to have had key importance in the different biogeochemical cycles of the reservoir system were also identified. The role of *Arthrospira* in the fixation of carbon dioxide and nitrogen could be significant; *Methylobacterium* was proven to be the only metanotrophic genus; and four sulfate-reducing genera could have played a role in the biodegradation of aromatic compounds (*Desulfonatronum*, *Desulfosarcina*, *Desulfurivibrio* and *Desulfatiglans*). Members of the genera *Iamia*, *Hydrogenophaga* and *Azoarcus* could perform complete denitrification, while genera *Thiobacillus*, *Thiocapsa* and *Thioalkalivibrio* could have a function in the oxidation of hydrogen sulphide to sulphate.

10. Köszönetnyilvánítás

Ez a disszertáció nem jöhetett volna létre anélkül a segítség, iránymutatás és támogatás nélkül, melyet a doktorandusz éveim alatt, és még azokat megelőzőleg is kaptam mentoraimtól, kollégáktól, barátoktól és a családomtól.

Elsősorban szeretném köszönetemet kifejezni Borsodi Andreának, aki a témavezetőmként mind a mesterhallgatói éveim alatt, mind doktoranduszként mellettem állt tanácsaival, ötleteivel és javaslataival, melyek elengedhetetlenek voltak egy igényes kutatás létrejöttéhez. Köszönöm Andreának a türelmét és az alaposágát is, mellyel a munkámhoz állt, valamint az emberi léptékű, jó hangulatú, de szakmailag igényes légkört, ami a laborunkat és a közös munkát jellemezte.

Köszönettel tartozom ezen felül;

- a Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ Halászati Kutatóintézete (NAIK-HAKI) munkatársainak; Pekár Ferencnek, Janurik Endrének és Kosáros Tündének akik a mintavételeket intézték, valamint a tóvíz fizikai és kémiai paramétereinek mérését végezték.
- Szalay Annának, aki 2012 és 2013 között mesterhallgatóként a Barex-tórendszer BT1-es taván együtt dolgozott velem a klónkönyvtárak létrehozásában és feldolgozásában.
- a laborunk csapatának; Anda Dórinak, Aszalós Julinak és Krett Gergőnek, hogy kérdéssel mindig fordulhattam hozzájuk és hogy a laborunkban egy vidám, barátságos és segítőkész légkört hoztak létre, aminek jó volt a részese lenni
- Szabó Attilának, akinek a segítsége nélkülözhetetlen volt az újgenerációs szekvenáláson alapuló vizsgálatok létrejöttéhez
- Márialigeti Károly tanár úrnak aki a (doktorandusz éveim alatt) tanszékvezetőként lehetővé tette munkámat a Mikrobiológiai tanszéken.
- Az ELTE TTK Mikrobiológiai tanszék valamennyi munkatársának tanácsaikért és technikai segítségükért
- Felix Rosebrocknak, aki a disszertáció írása alatt végig bíztatott és motivált, néha szakmai, néha praktikus tanácsokkal, néha gofrival.
- A családomnak, akik mind bíztattak és ösztönöztek ezen az úton, különös tekintettel a szüleimnek; Szirányiné Keresztes Krisztinának és Szirányi Tamásnak.

11. Idézett irodalom

- Abraham, W.-R., H. Lunsdorf, M. Vancanneyt, and J. Smit. 2013. "Cauliform Bacteria Lacking Phospholipids from an Abyssal Hydrothermal Vent: Proposal of *Glycocaulis abyssi* Gen. Nov., Sp. Nov., Belonging to the Family Hyphomonadaceae." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 63(Pt 6): 2207–15. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ij.0.047894-0> (March 19, 2018).
- Alva, Victor A., and Brent M. Peyton. 2003. "Phenol and Catechol Biodegradation by the Haloalkaliphile *Halomonas campisalis*: Influence of pH and Salinity." <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0341844> (May 18, 2018).
- Andrade, Michele R., and J. A V Costa. 2007. "Mixotrophic Cultivation of Microalga *Spirulina platensis* Using Molasses as Organic Substrate." *Aquaculture* 264(1–4): 130–34.
- "Arb-Silva Database." <https://www.arb-silva.de/aligner/>.
- Árpási, Miklós. 1992. *Assessment of Geothermal Reserves of Hungary. Study for MOL Co. Budapest.*
- Árpási, Miklós. 1998. *Conception of Geothermal Energy Utilization in Hungary. Study for the Hungarian Geothermal Association (HGA), Budapest.*
- Árpási, Miklós. 2003. "Geothermal Development in Hungary—country Update Report 2000–2002." *Geothermics* 32(4–6): 371–77. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375650503000786> (September 20, 2018).
- Árpási, Miklós, Árpád Lorberer, and Sándor Pap. 2000. "High Pressure and Temperature (Geopressured) Geothermal Reservoirs in Hungary." *World Geothermal Congress*: 2511–14. <http://www.geothermal-energy.org/pdf/IGAstandard/WGC/2000/R0868.PDF>.
- Árpási, Miklós, and G Szabó. 1999. "Role of the Oil Industry on Geothermal Energy Developments in Hungary." In *International Geothermal Days, Oregon*, Klamath Falls, USA.
- Asao, Marie, Shinichi Takaichi, and Michael T. Madigan. 2007. "*Thiocapsa imhoffii*, Sp. Nov., an Alkaliphilic Purple Sulfur Bacterium of the Family Chromatiaceae from Soap Lake, Washington (USA)." *Archives of Microbiology* 188(6): 665–75. <http://link.springer.com/10.1007/s00203-007-0287-9> (October 12, 2018).
- Atlas, Ronald M, and Jim Philp. 2005. *Bioremediation - Applied Microbial Solutions for Real-World Environmental Cleanup*. Washington D.C.: ASM Press - American Society for Microbiology.
- Bak, F., and F. Widdel. 1986. "Anaerobic Degradation of Phenol and Phenol Derivatives by *Desulfobacterium phenolicum* sp. Nov." *Archives of Microbiology* 146(2): 177–80. <http://link.springer.com/10.1007/BF00402347> (August 3, 2018).
- Bálint, András, and János Szanyi. 2015. "A Half Century of Reservoir Property Changes in the Szentes Geothermal Field, Hungary." *Central European Geology* 58(1–2): 171–85.
- Ballot, Andreas, Pawan K. Dadheech, Sigrid Haande, and Lothar Krienitz. 2008. "Morphological and Phylogenetic Analysis of *Anabaenopsis abijatae* and *Anabaenopsis elenkinii* (Nostocales, Cyanobacteria) from Tropical Inland Water Bodies." *Microbial Ecology* 55(4): 608–18. <http://link.springer.com/10.1007/s00248-007-9304-4> (August 28, 2017).
- Balog, Kitty, and Andrea Farsang. 2011. *A Használt Hévíz Szikkadás Hatásai a Talaj-Talajvíz Rendszerre, Különös Tekintettel a Szikessedés Részfolyamataira - Doktori Értekezés. Szegedi Tudományegyetem: Természeti Földrajzi és Geoinformatikai Tanszék, Földtudományi Doktori Iskola.*
- Bastos, Ribeiro Artur Eduardo et al. 2000. "Salt-Tolerant Phenol-Degrading Microorganisms Isolated from Amazonian Soil Samples." *Archives of Microbiology* 174(5): 346–52. <http://link.springer.com/10.1007/s002030000216> (May 18, 2018).
- Bhumika, V., T. N. R. Srinivas, K. Ravinder, and P. Anil Kumar. 2013. "*Mariniradius saccharolyticus* Gen. Nov., Sp. Nov., a Member of the Family Cyclobacteriaceae Isolated from Marine Aquaculture Pond Water, and Emended Descriptions of the Genus *Aquiflexum* and *Aquiflexum balticum*." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 63(Pt 6): 2088–94. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ij.0.043919-0> (March 23, 2018).
- Bobok, E, B Mating, and L Navratil. 1988. "Investigation of Different Methods for Geothermal Resources Assessment." *Inl. Földtani Kutatás* (31): 79–83.
- Boldizsár, T. 1967. "Terrestrial Heat and Geothermal Resources in Hungary." *Bulletin Volcanologique* 30(1): 221–27. <http://link.springer.com/10.1007/BF02597670> (September 20, 2018).
- Boros, E., Zs. Horváth, G. Wolfram, and L. Vörös. 2014. "Salinity and Ionic Composition of the Shallow Astatic Soda Pans in the Carpathian Basin." *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 50(1): 59–69. <http://www.limnology-journal.org/10.1051/limn/2013068> (August 4, 2018).
- Boros, Emil, Katalin V.-Balogh, Lajos Vörös, and Zsófia Horváth. 2017. "Multiple Extreme Environmental Conditions of Intermittent Soda Pans in the Carpathian Basin (Central Europe)." *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* 62: 38–46. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0075951116301815> (July 31, 2018).
- Borrel, G. et al. 2012. "*Methanobacterium lacus* Sp. Nov., Isolated from the Profundal Sediment of a Freshwater Meromictic Lake." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 62(Pt 7): 1625–29. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ij.0.034538-0> (March 28, 2018).
- Borsodi, Andrea, Tünde Kosáros, et al. 2011. "Adatok Egy Termákvíz Befogadására Szolgáló Hűtő-Tároló Tó Vízkémiai És Mikrobiológiai Jellemzőiről." *Hidrológiai Közöny* 91(6): 33–36.
- Borsodi, Andrea, Beatrix Pollák, et al. 2011. "*Bacillus alkalisediminis* Sp. Nov., an Alkaliphilic and Moderately Halophilic Bacterium Isolated from Sediment of Extremely Shallow Soda Ponds." *International Journal of Systematic and*

- Evolutionary Microbiology* 61(8): 1880–86.
- Borsodi, Andrea et al. 2012. "Egy Termálvíz Befogadására Szolgáló Hűtő-Tározó Tó Vízkémiai És Mikrobiológiai Jellemzőinek Térbeni És Időbeni Változása." *Hidrológiai Közöny* 92(5–6): 92–95.
- Borsodi, Andrea, Barbara Szirányi, et al. 2013. "A Baktériumközösségek Filogenetikai Diverzitásának És a Vízkémiai Jellemzők Változásának Vizsgálata Egy Hűtő-Tározó Tóban." *Hidrológiai Közöny* 93(5–6): 19–22.
- Borsodi, Andrea, Mónika Knáb, et al. 2013. "Planktonic Bacterial Community Composition of an Extremely Shallow Soda Pond during a Phytoplankton Bloom Revealed by Cultivation and Molecular Cloning." *Extremophiles* 17(4): 575–84.
- Borsodi, Andrea et al. 2016. "Changes in the Water Quality and Bacterial Community Composition of an Alkaline and Saline Oxbow Lake Used for Temporary Reservoir of Geothermal Waters." *Environmental Science and Pollution Research* 23(17): 17676–88. <http://link.springer.com/10.1007/s11356-016-6923-7> (October 3, 2016).
- Bossier, P., and W. Verstraete. 1996. "Triggers for Microbial Aggregation in Activated Sludge?" *Applied Microbiology and Biotechnology* 45(1–2): 1–6. <http://link.springer.com/10.1007/s002530050640> (March 27, 2018).
- Busse, H.-J. et al. 2010. "Notes on the Characterization of Prokaryote Strains for Taxonomic Purposes." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60(1): 249–66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19700448> (February 28, 2018).
- Cappetti, Guido, Luigi Parisi, Angelo Ridolfi, and Giancarlo Stefani. 1995. "Fifteen Years of Reinjection in the Larderello-Valle Secolo Area: Analysis of the Production Data." In *Proceedings of the World Geothermal Congress*, 1997–2000.
- Castenholz, RW, R Rippka, and M Herdman. 2015. "Subsection III." In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00432/full>.
- Caumette, Pierre, Renée Baulaigue, and Robert Matheron. 1991. "*Thiocapsa halophila* Sp. Nov., a New Halophilic Phototrophic Purple Sulfur Bacterium." *Archives of Microbiology* 155(2): 170–76. <http://link.springer.com/10.1007/BF00248613> (March 22, 2018).
- Chang, Ho-Won et al. 2007. "*Arthrobacter subterraneus* Sp. Nov., Isolated from Deep Subsurface Water of the South Coast of Korea." *Journal of microbiology and biotechnology* 17(11): 1875–79. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18092474>.
- Chaudhary, Dhiraj Kumar, and Jaisoo Kim. 2017. "*Sphingomonas olei* Sp. Nov., with the Ability to Degrade Aliphatic Hydrocarbons, Isolated from Oil-Contaminated Soil." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67(8): 2731–38. <http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.002010> (February 28, 2018).
- Cho, Kyeoung-Suk, Mitsuyo Hirai, and Makoto Shoda. 1991. "Degradation Characteristics of Hydrogen Sulfide, Methanethiol, Dimethyl Sulfide and Dimethyl Disulfide by *Thiobacillus thioparus* DW44 Isolated from Peat Biofilter." *Journal of Fermentation and Bioengineering* 71(6): 384–89. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0922338X9190248F> (March 21, 2018).
- Csikai, Miklós. 2008. "A Termálvíz Komplex Mezőgazdasági Hasznosítása Szentesen." In *Geotermia a XXI. Században*, Kistelek.
- Csiszár, Endre. 2013. "Termálvíz Visszasajtolás Megvalósításának Lehetőségei Szentes Térségében." MSc. Diplo.
- Dahle, H., and Nils-Kåre Birkeland. 2006. "Thermovirga Lienii Gen. Nov., Sp. Nov., a Novel Moderately Thermophilic, Anaerobic, Amino-Acid-Degrading Bacterium Isolated from a North Sea Oil Well." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 56(7): 1539–45. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.63894-0> (March 27, 2018).
- DeLong, E F. 1992. "Archaea in Coastal Marine Environments." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(12): 5685–89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1608980> (June 24, 2017).
- Dimitriu, P. A. et al. 2005. "Nitrincola Lacisaponensis Gen. Nov., Sp. Nov., a Novel Alkaliphilic Bacterium Isolated from an Alkaline, Saline Lake." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 55(6): 2273–78. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.63647-0> (March 22, 2018).
- Dr. Patrick Schloss. "Mothur." <https://www.mothur.org/> (June 30, 2017).
- "Draw Freely | Inkscape." <https://inkscape.org/en/> (August 24, 2017).
- "DSMZ R2A Medium." http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium830.pdf.
- Edgar, Robert C et al. 2011. "UCHIME Improves Sensitivity and Speed of Chimera Detection." *Bioinformatics (Oxford, England)* 27(16): 2194–2200. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21700674> (February 28, 2018).
- "European Nucleotide Archive < EMBL-EBI." <http://www.ebi.ac.uk/ena> (August 25, 2017).
- Fahy, A. et al. 2008. "Isolation of Alkali-Tolerant Benzene-Degrading Bacteria from a Contaminated Aquifer." *Letters in Applied Microbiology* 47(1): 60–66.
- Le Faou, Alain E et al. 2002. "Reclassification of the Only Species of the Genus *Desulfomonas*, *Desulfomonas pigra*, as *Desulfovibrio piger* Comb. Nov." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52(4): 1305–8. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-52-4-1305> (March 23, 2018).
- Felföldi, Tamás, Boglárka Somogyi, Károly Márialigeti, and Lajos Vörös. 2009. "Characterization of Photoautotrophic Picoplankton Assemblages in Turbid, Alkaline Lakes of the Carpathian Basin (Central Europe)." *Journal of Limnology* 68(2): 385–95.
- Foght, Julia. 2008. "Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects." *Journal of molecular microbiology and biotechnology* 15(2–3): 93–120. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18685265> (August 3, 2018).
- "Free Data Visualization Software | Tableau Public." <https://public.tableau.com/s/> (August 24, 2017).
- Fridleifsson, Ingvar B., and Derek H. Freeston. 1994. "Geothermal Energy Research and Development." *Geothermics* 23(2):

- 175–214. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037565059490037X> (April 25, 2018).
- Fuerst, J. A. et al. 1993. "*Porphyrobacter neustonensis* Gen. Nov., Sp. Nov., an Aerobic Bacteriochlorophyll-Synthesizing Budding Bacterium from Fresh Water." *International Journal of Systematic Bacteriology* 43(1): 125–34. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-43-1-125> (March 20, 2018).
- Gauthier, M. J. et al. 1992. "*Marinobacter hydrocarbonoclasticus* Gen. Nov., Sp. Nov., a New, Extremely Halotolerant, Hydrocarbon-Degrading Marine Bacterium." *International Journal of Systematic Bacteriology* 42(4): 568–76. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-42-4-568> (November 9, 2018).
- Greene, Anthony C, Bharat K C Patel, and Alan J Sheehy. 1997. "Manganese- and Iron-Reducing Bacterium Isolated from a Petroleum Reservoir." *Strain* 47(2): 505–9.
- de Groot, Rudolf S, Matthew A Wilson, and Roelof M.J Boumans. 2002. "A Typology for the Classification, Description and Valuation of Ecosystem Functions, Goods and Services." *Ecological Economics* 41(3): 393–408. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921800902000897> (September 20, 2018).
- Grosskopf, R, P H Janssen, and W Liesack. 1998. "Diversity and Structure of the Methanogenic Community in Anoxic Rice Paddy Soil Microcosms as Examined by Cultivation and Direct 16S rRNA Gene Sequence Retrieval." *Applied and environmental microbiology* 64(3): 960–69. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9501436> (June 24, 2017).
- Guazzaroni, María Eugenia et al. 2013. "Metaproteogenomic Insights beyond Bacterial Response to Naphthalene Exposure and Bio-Stimulation." *ISME Journal* 7(1): 122–36.
- Hammer Øyvind. "PAST." <https://folk.uio.no/ohammer/past/> (August 24, 2017).
- Hatzinger, P B et al. 2001. "Biodegradation of Methyl Tert-Butyl Ether by a Pure Bacterial Culture." *Applied and environmental microbiology* 67(12): 5601–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11722912> (March 21, 2018).
- Heyrman, Jeroen et al. 2005. "Study of Mural Painting Isolates, Leading to the Transfer of '*Bacillus maroccanus*' and '*Bacillus carotarum*' to *Bacillus simplex*, Emended Description of *Bacillus simplex*, Re-Examination of the Strains Previously Attributed to '*Bacillus macroides*' and Descr." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55(1): 119–31.
- Hinteregger, C., and F. Streichsbier. 1997. "*Halomonas* Sp., a Moderately Halophilic Strain, for Biotreatment of Saline Phenolic Waste-Water." *Biotechnology Letters* 19(11): 1099–1102. <http://link.springer.com/10.1023/A:1018488410102> (May 18, 2018).
- Hiraishi, Akira et al. 2002. "Characterization of *Porphyrobacter sanguineus* Sp. Nov., an Aerobic Bacteriochlorophyll-Containing Bacterium Capable of Degrading Biphenyl and Dibenzofuran." *Archives of Microbiology* 178(1): 45–52. <http://link.springer.com/10.1007/s00203-002-0423-5> (March 20, 2018).
- Horikoshi, Koki. 2001. "Alkaliphiles." In *Encyclopedia of Life Sciences*, Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. <http://doi.wiley.com/10.1038/npg.els.0000337> (July 29, 2018).
- Hugenholtz, Philip, Gene W. Tyson, Linda L. Blackall, and Lovisa Björnsson. 2002. "Filamentous Chloroflexi (Green Non-Sulfur Bacteria) Are Abundant in Wastewater Treatment Processes with Biological Nutrient Removal C." *Microbiology* 148(8): 2309–18. <http://mic.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-148-8-2309> (March 27, 2018).
- hvg.hu. "Novemberben Már Működni Fog Az Ország Első Geotermikus Erőműve - HVG.Hu." http://hvg.hu/kkv/20171010_Novemberben_mar_mukodni_fog_az_orzag_elso_geotermikus_eromuve (April 17, 2018).
- Imachi, H. et al. 2008. "Methanolinea Tarda Gen. Nov., Sp. Nov., a Methane-Producing Archaeon Isolated from a Methanogenic Digester Sludge." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 58(1): 294–301. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.65394-0> (March 28, 2018).
- Jiang, Yu et al. 2016. "Removal Performance and Microbial Communities in a Sequencing Batch Reactor Treating Hypersaline Phenol-Laden Wastewater." *Bioresource Technology* 218: 146–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.055>.
- Jones, Brian E., and William D. Grant. 1999. "Microbial Diversity and Ecology of the Soda Lakes of East Africa." *Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*: 1–7. www.eolss.net.
- Kalyuzhnaya, M. G. et al. 2008. "Classification of Halo(Alkali)Philic and Halo(Alkali)Tolerant Methanotrophs Provisionally Assigned to the Genera *Methylomicrobium* and *Methylobacter* and Emended Description of the Genus *Methylomicrobium*." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 58(3): 591–96. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.65317-0> (March 22, 2018).
- Kanekar, P.P., S.S. Sarnaik, and A.S. Kelkar. 1998. "Bioremediation of Phenol by Alkaliphilic Bacteria Isolated from Alkaline Lake of Lonar, India." *Journal of Applied Microbiology* 85(S1): 128S–133S. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2672.1998.tb05291.x> (May 18, 2018).
- Kárpáti, Z. et al. 1999. "Organic Matter in Thermal Waters of the Pannonian Basin – a Preliminary Report on Aromatic Compounds." *Organic Geochemistry* 30(7): 701–12.
- Kim, M.-S. et al. 2009. "Alishewanella Jeotgali Sp. Nov., Isolated from Traditional Fermented Food, and Emended Description of the Genus *Alishewanella*." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 59(9): 2313–16. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.007260-0> (March 22, 2018).
- Kim, O.-S. et al. 2012. "Introducing EzTaxon-e: A Prokaryotic 16S rRNA Gene Sequence Database with Phylotypes That Represent Uncultured Species." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 62(Pt 3): 716–21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22140171> (May 17, 2017).
- Kimura, M. 1980. "A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions through Comparative Studies of Nucleotide Sequences." *Journal of molecular evolution* 16(2): 111–20.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7463489> (October 26, 2017).
- Knoll, G., and J. Winter. 1987. "Anaerobic Degradation of Phenol in Sewage Sludge." *Applied Microbiology and Biotechnology* 25(4): 384–91. <http://link.springer.com/10.1007/BF00252552> (August 3, 2018).
- Kojima, Kiyoshi et al. 2002. "*Dietzia psychrocaliphila* Sp. Nov., a Novel, Facultatively Psychrophilic Alkaliphile That Grows on Hydrocarbons." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52(1): 85–90. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-52-1-85> (October 18, 2018).
- Kolekar, Yogesh M. et al. 2013. "*Alishewanella solinquinati* Sp. Nov., Isolated from Soil Contaminated with Textile Dyes." *Current Microbiology* 67(4): 454–59. <http://link.springer.com/10.1007/s00284-013-0385-7> (March 22, 2018).
- Korim, K. 1972. "Geological Aspects of Thermal Water Occurrences in Hungary." *Geothermics* 1(3): 96–102.
- Korim, K. 1998. "Production and Utilization of the Geothermal Energy in Hungary." *Int. Kőolaj és Földgáz* (31): 33–38.
- Korponai, Kristóf et al. 2015. "Bíborbaktérium-Közösség Összetételének Megismerése Újgenerációs DNS-Szekvenálási És Tenyésztési Technikák Kombinálásával." *Hidrológiai Közlöny* 95(5–6): 29–31.
- Kryachko, Yuriy, Xiaoli Dong, Christoph W. Sensen, and Gerrit Voordouw. 2012. "Compositions of Microbial Communities Associated with Oil and Water in a Mesothermic Oil Field." *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* 101(3): 493–506.
- Kuever, Jan, Fred A. Rainey, and Friedrich Widdel. 2013. "*Desulfosarcina*." In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 1–7. <http://doi.wiley.com/10.1002/9781118960608.gbm01020> (March 23, 2018).
- Kumar, Sudhir et al. 2016. "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets." *Molecular Biology and Evolution* 33(7): 1870–74. <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msw054> (June 25, 2017).
- Kurahashi, M. et al. 2009. "*Iamia majanohamensis* Gen. Nov., Sp. Nov., an Actinobacterium Isolated from Sea Cucumber *Holothuria Edulis*, and Proposal of Iamiaceae Fam. Nov." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 59(4): 869–73. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.005611-0> (March 26, 2018).
- Lalucat, J., R. Pares, and H. G. Schlegel. 1982. "*Pseudomonas taeniospiralis* Sp. Nov., an R-Body-Containing Hydrogen Bacterium." *International Journal of Systematic Bacteriology* 32(3): 332–38. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-32-3-332> (August 30, 2017).
- Lambo, Adewale J., and Thakor R. Patel. 2006. "Isolation and Characterization of a Biphenyl-Utilizing Psychrotrophic Bacterium, *Hydrogenophaga Taeniospiralis* IA3-A, That Cometabolize Dichlorobiphenyls and Polychlorinated Biphenyl Congeners in Aroclor 1221." *Journal of Basic Microbiology* 46(2): 94–107.
- Lane J., David. 1991. "16S/23S rRNA Sequencing." In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, eds. Erko Stackebrandt and M Goodfellow. New York: Wiley, New York, 115–175.
- Lanzén, Anders et al. 2013. "Surprising Prokaryotic and Eukaryotic Diversity, Community Structure and Biogeography of Ethiopian Soda Lakes." *PLoS ONE* 8(8).
- László, Zsuzsanna, and Cecilia Hodúr. 2007. "Purification of Thermal Wastewater by Membrane Separation and Ozonation." *Desalination* 206(1–3): 333–40. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916406014317> (April 19, 2018).
- Lee, J. H. et al. 2004. "*Paracoccus haeundaensis* Sp. Nov., a Gram-Negative, Halophilic, Astaxanthin-Producing Bacterium." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 54(5): 1699–1702. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.63146-0> (August 30, 2017).
- Lenkey, L., P. Dövényi, F. Horváth, and S. a. P. L. Cloetingh. 2001. "Geothermics of the Pannonian Basin and Its Bearing on the Neotectonics." *Stephan Mueller Special Publication Series* 3: 29–40.
- Letunic, Ivica, and Peer Bork. 2016. "Interactive Tree of Life (ITOL) v3: An Online Tool for the Display and Annotation of Phylogenetic and Other Trees." *Nucleic Acids Research* 44(W1): W242–45. <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkw290> (February 28, 2018).
- Li, Jie et al. 2008. "*Dietzia schimae* Sp. Nov. and *Dietzia cercidiphylli* Sp. Nov., from Surface-Sterilized Plant Tissues." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58(11): 2549–54.
- Li, Wen Jun et al. 2005. "*Nesterenkonia sandarakina* Sp. Nov. and *Nesterenkonia lutea* Sp. Nov., Novel Actinobacteria and Emended Description of the Genus *Nesterenkonia*." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55(1): 463–66.
- Lika, K., and I.A. Papadakis. 2009. "Modeling the Biodegradation of Phenolic Compounds by Microalgae." *Journal of Sea Research* 62(2–3): 135–46. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385110109000252> (March 16, 2018).
- Liu, Hong-Can et al. 2016. "*Planktosalinus lacus* Gen. Nov., Sp. Nov., a Member of the Family Flavobacteriaceae Isolated from a Salt Lake." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66(5): 2084–89. <http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.000997> (March 26, 2018).
- Liu, Ying et al. 2012. "*Rheinheimera longhuensis* Sp. Nov., Isolated from a Slightly Alkaline Lake, and Emended Description of Genus *Rheinheimera* Brettar et Al. 2002." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62(12): 2927–33.
- Lu, Shipeng et al. 2007. "*Simplicispira limi* Sp. Nov., Isolated from Activated Sludge." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57(1): 31–34.
- Lund, John W. 2010. "Direct Utilization of Geothermal Energy." *Energies* 3(8): 1443–71.

- Lv, X.-L. et al. 2014. "*Glycocalis albus* Sp. Nov., a Moderately Halophilic Dimorphic Prosthecate Bacterium Isolated from Petroleum-Contaminated Saline Soil." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 64(Pt 9): 3181–87. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.063537-0> (March 19, 2018).
- Ma, K., Xiaoli Liu, and Xiuzhu Dong. 2006. "*Methanosaeta harundinacea* Sp. Nov., a Novel Acetate-Scavenging Methanogen Isolated from a UASB Reactor." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 56(1): 127–31. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.63887-0> (May 26, 2017).
- Ma, Yanhe et al. 2004. "*Alkalimonas amyolytica* Gen. Nov., Sp. Nov., and *Alkalimonas Delamerensis* Gen. Nov., Sp. Nov., Novel Alkaliphilic Bacteria from Soda Lakes in China and East Africa." *Extremophiles* 8(3): 193–200. <http://link.springer.com/10.1007/s00792-004-0377-4> (March 22, 2018).
- Madigan, Michael T. et al. 2015. *Brock Biology of Microorganisms*. 14th ed. Boston: Pearson.
- Mádlné Szőnyi, Judit et al. 2013. *Hidrobiológia*. ed. Judit Mádlné Szőnyi. Budapest: Eötvös Loránd Tudományegyetem.
- Maltseva, O, and P Oriël. 1997. "Monitoring of an Alkaline 2,4,6-Trichlorophenol-Degrading Enrichment Culture by DNA Fingerprinting Methods and Isolation of the Responsible Organism, *Haloalkaliphilic nocardioideis* Sp. Strain M6." *Applied and environmental microbiology* 63(11): 4145–49. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16535723> (May 18, 2018).
- Margesin, R., and F. Schinner. 2001. "Biodegradation and Bioremediation of Hydrocarbons in Extreme Environments." *Applied Microbiology and Biotechnology* 56(5–6): 650–63. <http://link.springer.com/10.1007/s002530100701> (October 3, 2016).
- Margesin, Rosa, and Franz Schinner. 2001. "Potential of Halotolerant and Halophilic Microorganisms for Biotechnology." *Extremophiles* 5(2): 73–83. <http://link.springer.com/10.1007/s007920100184> (July 29, 2018).
- Markou, Giorgos, Iordanis Chatzipavlidis, and Dimitris Georgakakis. 2012. "Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in Olive-Oil Mill Wastewater Treated with Sodium Hypochlorite." *Bioresource Technology* 112: 234–41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.098>.
- Matagi, Samuel Vivian. 2004. "A Biodiversity Assessment of the Flamingo Lakes of Eastern Africa." *Biodiversity* 5(1): 13–26.
- Mechichi, Tahar, Erko Stackebrandt, Nasser Gad'on, and Georg Fuchs. 2002. "Phylogenetic and Metabolic Diversity of Bacteria Degrading Aromatic Compounds under Denitrifying Conditions, and Description of *Thauera Phenylacetica* Sp. Nov., *Thauera aminoaromatica* Sp. Nov., and *Azoarcus buckelii* Sp. Nov." *Archives of Microbiology* 178(1): 26–35.
- Messing, Joachim. 1983. "New M13 Vectors for Cloning." In *Methods in Enzymology*, Academic Press, 20–78. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0076687983010058> (June 25, 2017).
- Mezzomo, Natália et al. 2010. "Cultivation of Microalgae *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) from Biological Treatment of Swine Wastewater." *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 30(1): 173–78. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000100026&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
- Milford, Amy D., Laurie A. Achenbach, Deborah O. Jung, and Michael T. Madigan. 2000. "Rhodobaca Bogoriensis Gen. Nov. and Sp. Nov., an Alkaliphilic Purple Nonsulfur Bacterium from African Rift Valley Soda Lakes." *Archives of Microbiology* 174(1–2): 18–27. <http://link.springer.com/10.1007/s002030000166> (March 20, 2018).
- Miyazaki, M. et al. 2012. "*Geofilum rubicundum* Gen. Nov., Sp. Nov., Isolated from Deep Subseafloor Sediment." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 62(Pt 5): 1075–80. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.032326-0> (March 26, 2018).
- Mochimaru, Hanako et al. 2007. "Microbial Diversity and Methanogenic Potential in a High Temperature Natural Gas Field in Japan." *Extremophiles* 11(3): 453–61.
- Moore, R. L., R. M. Weiner, and R. Gebers. 1984. "Notes: Genus *Hyphomonas* Pongratz 1957 Nom. Rev. Emend., *Hyphomonas polymorpha* Pongratz 1957 Nom. Rev. Emend., and *Hyphomonas neptunium* (Leifson 1964) Comb. Nov. Emend. (Hyphomicrobium Neptunium)." *International Journal of Systematic Bacteriology* 34(1): 71–73. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-34-1-71> (March 20, 2018).
- Mori, K. et al. 2000. "*Methanocalculus pumilus* Sp. Nov., a Heavy-Metal-Tolerant Methanogen Isolated from a Waste-Disposal Site." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50(5): 1723–29.
- Mountfort, D O, W J Brulla, L R Krumholz, and M P Bryant. 1984. "Syntrophus Buswelli Gen. Nov., Sp. Nov.: A Benzoate Catabolizer from Methanogenic Ecosystems." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 34(2): 216–17.
- Muyzer, G, E C de Waal, and A G Uitterlinden. 1993. "Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes Coding for 16S rRNA." *Applied and environmental microbiology* 59(3): 695–700. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7683183> (April 30, 2017).
- Mwirichia, R. et al. 2011. "Bacterial Diversity in the Haloalkaline Lake Elmenteita, Kenya." *Current Microbiology* 62(1): 209–21.
- Németh, Andrea et al. 2014. "Prokaryotic Phylogenetic Diversity of Hungarian Deep Subsurface Geothermal Well Waters." *Acta microbiologica et immunologica Hungarica* 61(3): 363–77. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25261947>.
- Nielsen, P., D. Fritze, and F. G. Priest. 1995. "Phenetic Diversity of Alkaliphilic *Bacillus* Strains: Proposal for Nine New Species." *Microbiology* 141(7): 1745–61.
- Nübel, U et al. 1996. "Sequence Heterogeneities of Genes Encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* Detected by Temperature Gradient Gel Electrophoresis." *Journal of bacteriology* 178(19): 5636–43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8824607> (April 30, 2017).
- Nyren, P., B. Pettersson, and M. Uhlen. 1993. "Solid Phase DNA Minisequencing by an Enzymatic Luminometric Inorganic Pyrophosphate Detection Assay." *Analytical Biochemistry* 208(1): 171–75.

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269783710249> (August 24, 2017).
- Oláh, J. 2006. *Környezetgazdálkodás III. Jegyzet. Tessedik Sámuel Főiskola, Szarvas.*
- Olguín, Eugenia J., Sonia Galicia, Gabriel Mercado, and Teresa Pérez. 2003. "Annual Productivity of Spirulina (Arthrospira) and Nutrient Removal in a Pig Wastewater Recycling Process under Tropical Conditions." *Journal of Applied Phycology* 15(2/3): 249–57. <http://link.springer.com/10.1023/A:1023856702544> (August 28, 2017).
- Országos Meteorológiai Szolgálat. 2013. "MET - Éghajlati Visszatekintő." *Éghajlati visszatekintő*. http://www.met.hu/eghajlat/magyarorszag_eghajlata/eghajlati_visszatekinto/elmult_honapok_idojarasa/.
- Oyarzún, Patricio, Fernando Arancibia, Christian Canales, and Germán E. Aroca. 2003. "Biofiltration of High Concentration of Hydrogen Sulphide Using *Thiobacillus thioparus*." *Process Biochemistry* 39(2): 165–70. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959203000505> (March 21, 2018).
- Pálffy, Károly et al. 2014. "Unique Picoeukaryotic Algal Community under Multiple Environmental Stress Conditions in a Shallow, Alkaline Pan." *Extremophiles* 18(1): 111–19.
- Parks, Donovan H et al. 2018. "A Standardized Bacterial Taxonomy Based on Genome Phylogeny Substantially Revises the Tree of Life." *Nature Biotechnology*. <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nbt.4229> (September 13, 2018).
- Pekár, Ferenc. 2008. "A Geotermikus Energiahasznosítás Alapjai És Környezeti Hatásai." In *Tamás J. Szerk. - Agrárium És Környezetgazdálkodás*, Budapest: Mezőgazda Kiadó, 195–98.
- Pekár, Ferenc. 2013. "A Baxex Kft. Termálvíz-Ellátó És Használt-Termálvíz Tározórendszerének Rövid Leírása (Kivonat a Szennyvezécsökkentési Ütemterv 2012. Évi Beszámoló Jelentéséből)." : 1–3.
- Pigniczki, Csaba. "Waterbird-Mediated Productivity of Two Soda Pans in the Carpathian Basin in Central Europe Waterbird-Mediated Productivity of Two Soda Pans in the Carpathian Basin in Central Europe." 39(4): 388–401.
- Pikuta, E. V. et al. 2003. "*Desulfonatronum thiodismutans* Sp. Nov., a Novel Alkaliphilic, Sulfate-Reducing Bacterium Capable of Lithoautotrophic Growth." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 53(5): 1327–32. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.02598-0> (March 23, 2018).
- Pogoryelov, D. et al. 2003. "Sodium Dependency of the Photosynthetic Electron Transport in the Alkaliphilic Cyanobacterium *Arthrospira Platensis*." *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 35(5): 427–37. <http://link.springer.com/10.1023/A:1027339814544> (November 8, 2018).
- Pohl, Pawel. 2006. "Application of Ion-Exchange Resins to the Fractionation of Metals in Water." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 25(1): 31–43. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016599360500169X> (April 19, 2018).
- Prakash, O. et al. 2014. "Description of *Micrococcus aloeverae* Sp. Nov., an Endophytic Actinobacterium Isolated from Aloe Vera." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64(Pt 10): 3427–33. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.063339-0>.
- Priscu, J. C. et al. 1982. "Vertical Profiles of Primary Productivity, Biomass and Physico-Chemical Properties in Meromictic Big Soda Lake, Nevada, U.S.A." *Hydrobiologia* 96(2): 113–20. <http://link.springer.com/10.1007/BF02185426> (October 12, 2018).
- Qiu, Yan-Ling et al. 2008. "*Syntrophorhabdus aromaticivorans* Gen. Nov., Sp. Nov., the First Cultured Anaerobe Capable of Degrading Phenol to Acetate in Obligate Syntrophic Associations with a Hydrogenotrophic Methanogen." *Applied and environmental microbiology* 74(7): 2051–58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18281436> (March 23, 2018).
- Reddy, G. S.N., R. K. Aggarwal, G. I. Matsumoto, and S. Shivaji. 2000. "*Arthrobacter flavus* Sp. Nov., a Psychrophilic Bacterium Isolated from a Pond in McMurdo Dry Valley, Antarctica." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50(4): 1553–61.
- Romanenko, L. A. et al. 2004. "*Reinekea marinisedimentorum* Gen. Nov., Sp. Nov., a Novel Gammaproteobacterium from Marine Coastal Sediments." *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 54(3): 669–73. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.02846-0> (March 22, 2018).
- Ronaghi, Mostafa, Mathias Uhlén, and Pål Nyren. 1998. "A Sequencing Method Based on Real-Time Pyrophosphate." *Science* 281(5375). <http://science.sciencemag.org/content/281/5375/363.full> (August 24, 2017).
- Rotaru, Amelia-Elena et al. 2014. "A New Model for Electron Flow during Anaerobic Digestion: Direct Interspecies Electron Transfer to Methanosaeta for the Reduction of Carbon Dioxide to Methane." *Energy Environ. Sci.* 7(1): 408–15. <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3EE42189A> (March 28, 2018).
- Saber, D L, and R L Crawford. 1985. "Isolation and Characterization of *Flavobacterium* Strains That Degrade Pentachlorophenol." *Applied and environmental microbiology* 50(6): 1512–18. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4091568> (March 23, 2018).
- Sarnaik, S., and P. Kanekar. 1995. "Bioremediation of Colour of Methyl Violet and Phenol from a Dye-Industry Waste Effluent Using *Pseudomonas* Spp. Isolated from Factory Soil." *Journal of Applied Bacteriology* 79(4): 459–69. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2672.1995.tb03162.x> (May 18, 2018).
- Satomi, M. et al. 1998. "Marinospirillum Gen. Nov., with Descriptions of *Marinospirillum megaterium* Sp. Nov., Isolated from Kusaya Gravy, and Transfer of *Oceanospirillum minutulum* to *Marinospirillum minutulum* Comb. Nov." *International Journal of Systematic Bacteriology* 48(4): 1341–48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9828435> (March 22, 2018).
- Scalan, D J, and Nyree J West. 2002. "Molecular Ecology of the Marine Cyanobacteria Genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*." *FEMS Microbiology Ecology* 40(March): 1–12.
- Scheffer, Marten et al. 1997. "On the Dominance of Filamentous Cyanobacteria in Shallow, Turbid Lakes Published by : Ecological Society of America On The Dominance Of Filamentous Cyanobacteria In Shallow, Turbid Lakes." *Ecology* 78(1): 272–82.
- van Schie, Paula M., and Lily Y. Young. 2000. "Biodegradation of Phenol: Mechanisms and Applications." *Bioremediation*

- Journal* 4(1): 1–18.
- Schink, B., B. Philipp, and J. Müller. 2000. "Anaerobic Degradation of Phenolic Compounds." *Naturwissenschaften* 87(1): 12–23. <http://link.springer.com/10.1007/s001140050002> (August 3, 2018).
- Schink, Bernhard, and Norbert Pfennig. 1982. "Fermentation of Trihydroxybenzenes by *Pelobacter acidigallici* Gen. Nov. Sp. Nov., a New Strictly Anaerobic, Non-Sporeforming Bacterium." *Archives of Microbiology* 133(3): 195–201. <http://link.springer.com/10.1007/BF00415000> (March 23, 2018).
- Schlesner, Heinz. 1989. "Planctomyces Brasiliensis Sp. Nov., a Halotolerant Bacterium from a Salt Pit." *Systematic and Applied Microbiology* 12(2): 159–61. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202089800086> (October 18, 2018).
- Seibt, Peter, and Torsten Kellner. 2003. "Practical Experience in the Reinjection of Cooled Thermal Waters Back into Sandstone Reservoirs." *Geothermics* 32(4–6): 733–41. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0375650503000713> (April 17, 2018).
- Sheik, Cody S et al. 2011. "Effect of Warming and Drought on Grassland Microbial Communities." *The ISME Journal* 5(10): 1692–1700. <http://www.nature.com/articles/ismej201132> (March 15, 2018).
- Shivaji, S. 2009. "*Rhodobacter* Sp. LW4 16S rRNA Gene." <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/FM956479.1/>.
- Shlimon, Adris Georgis et al. 2004. "*Methanobacterium aarhusense* Sp. Nov., a Novel Methanogen Isolated from a Marine Sediment (Aarhus Bay, Denmark)." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54(3): 759–63.
- Simonič, Marjana, and Vojko Ozim. 1998. "Thermal Water Treatment with Granular Activated Carbon." *Journal of Hazardous Materials* 60(2): 205–10. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389498000910> (April 19, 2018).
- Singleton, David R., Liza Guzmán Ramirez, and Michael D. Aitken. 2009. "Characterization of a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation Gene Cluster in a Phenanthrene-Degrading Acidovorax Strain." *Applied and Environmental Microbiology* 75(9): 2613–20.
- Snorrason, Sigurður. 2011. "Effects of Geothermal Effluents on Macroinvertebrate Communities in a Pristine Sub-Arctic Lake." *Inland Waters* 1(3): 146–57. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.5268/IW-1.3.363> (April 19, 2018).
- Somogyi, Boglárka et al. 2009. "Winter Bloom of Picoeukaryotes in Hungarian Shallow Turbid Soda Pans and the Role of Light and Temperature." *Aquatic Ecology* 43(3): 735–44.
- Sorokin, Dmitry Yu et al. 2001. "*Thioalkalimicrobium aerophilum* Gen. Nov., Sp. Nov. and *Thioalkalimicrobium sibericum* Sp. Nov., and *Thioalkalivibrio versutus* Gen. Nov., Sp. Nov., *Thioalkalivibrio nitratis* Sp. Nov. and *Thioalkalivibrio denitrificans* Sp. Nov., Novel Obligately A." *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 51(2001): 565–80.
- Sorokin, Dmitry Yu. 2014a. "Microbial Diversity and Biogeochemical Cycling in Soda Lakes." *Extremophiles* 18(5): 791–809.
- Sorokin, Dmitry Yu. 2014b. "Microbial Diversity and Biogeochemical Cycling in Soda Lakes." *Extremophiles* 18(5): 791–809.
- Sorokin, Dmitry Yu, B. E. Jones, and J. Gijs Kuenen. 2000. "An Obligate Methylophilic, Methane-Oxidizing *Methylobacterium* Species from a Highly Alkaline Environment." *Extremophiles* 4(3): 145–55. <http://link.springer.com/10.1007/s007920070029> (March 22, 2018).
- Sorokin, Dmitry Yu, T. P. Tourova, Marc Mußmann, and G. Muyzer. 2008. "*Dethiobacter alkaliphilus* Gen. Nov. Sp. Nov., and *Desulfurivibrio alkaliphilus* Gen. Nov. Sp. Nov.: Two Novel Representatives of Reductive Sulfur Cycle from Soda Lakes." *Extremophiles* 12(3): 431–39. <http://link.springer.com/10.1007/s00792-008-0148-8> (March 27, 2018).
- Sorokin, Dmitry Yu, T. P. Tourova, and G. Muyzer. 2013. "Isolation and Characterization of Two Novel Alkalitolerant Sulfidogens from a Thiopaq Bioreactor, *Desulfonatronum alkalitolerans* Sp. Nov., and *Sulfurospirillum alkalitolerans* Sp. Nov." *Extremophiles* 17(3): 535–43. <http://link.springer.com/10.1007/s00792-013-0538-4> (March 22, 2018).
- Spanka, R, and D Fritze. 1993. "*Bacillus cohnii* Sp. Nov., a New, Obligately Alkaliphilic, Oval-Spore-Forming Bacillus Species with Ornithine and Aspartic Acid Instead of Diaminopimelic Acid in the Cell Wall." *International journal of systematic bacteriology* 43(1): 150–56.
- Su, Yujuan et al. 2018. "Reinjection of Cooled Water into Sandstone Geothermal Reservoirs in China: A Review." *Geosciences Journal* 22(1): 199–207. <http://link.springer.com/10.1007/s12303-017-0019-3> (April 17, 2018).
- Sun, Run et al. 2010. "Screening and Degrading Characteristics and Community Structure of a High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacterial Consortium from Contaminated Soil." *Journal of Environmental Sciences* 22(10): 1576–85. [http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60292-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60292-8).
- Suzuki, D. et al. 2014. "Reclassification of *Desulfobacterium anilini* as *Desulfatiglans anilini* Comb. Nov. within *Desulfatiglans* Gen. Nov., and Description of a 4-Chlorophenol-Degrading Sulfate-Reducing Bacterium, *Desulfatiglans parachlorophenolica* Sp. Nov." *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* 64(Pt 9): 3081–86. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.064360-0> (March 23, 2018).
- Szabó, Attila et al. 2015. "Egy Asztatikus Szikes Tó Planktonikus Mikrobaközösségének Taxonómiai És Funkcionális Genomikai Analízise." *Hidrobiológiai közlöny* 95(5–6): 73–76.
- Szabó, Attila. 2017. "Soda Pans of the Pannonian Steppe Harbor Unique Bacterial Communities Adapted to Multiple Extreme Conditions." *Extremophiles* 21(3): 639–49.
- Szanyi, János, and Balázs Kovács. 2010. "Utilization of Geothermal Systems in South-East Hungary." *Geothermics* 39(4): 357–64.
- Szirányi, Barbara. 2012. *Egy Termásvíz Befogadására Szolgáló Hűtő-Tároló Tó Baktériumközösségeinek Filogenetikai Diverzitása - Diplomamunka*. ed. Andrea Borsodi. Budapest: Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar.
- Takács, János, and Sándor Nagy. 2009. "A Termásvíz-Hasznosítás Környezetvédelmi Igénye." *Bányászat* 77(Miskolci Egyetem

- Közleménye): 169–80.
- Tamaki, Hideyuki et al. 2005. "Comparative Analysis of Bacterial Diversity in Freshwater Sediment of a Shallow Eutrophic Lake by Molecular and Improved Cultivation-Based Techniques Comparative Analysis of Bacterial Diversity in Freshwater Sediment of a Shallow Eutrophic Lake by Molecul." *Applied and Environmental Microbiology* 71(4): 2162–69.
- Tiago, Igor et al. 2005. "Microcella Putealis Gen. Nov., Sp. Nov., a Gram-Positive Alkaliphilic Bacterium Isolated from a Nonsaline Alkaline Groundwater." *Systematic and Applied Microbiology* 28(6): 479–87.
- Tokmachev, M.G., N.A. Tikhonov, and R.Kh. Khamizov. 2008. "Investigation of Cyclic Self-Sustaining Ion Exchange Process for Softening Water Solutions on the Basis of Mathematical Modeling." *Reactive and Functional Polymers* 68(8): 1245–52. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138151480800076X> (April 19, 2018).
- Tschech, A., and G. Fuchs. 1987. "Anaerobic Degradation of Phenol by Pure Cultures of Newly Isolated Denitrifying Pseudomonads." *Archives of Microbiology* 148(3): 213–17. <http://link.springer.com/10.1007/BF00414814> (August 3, 2018).
- Tudorancea, C. and W.D. Taylor. 2002. *Ethiopian Rift Valley Lakes*. Leiden: Backhuys Publishers. <http://www.euronet.nl/users/backhuys/tuet.htm> (May 12, 2018).
- Ungemach, Pierre. 2003. "Reinjection of Cooled Geothermal Brines into Sandstone Reservoirs." *Geothermics* 32(4–6): 743–61. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375650503000749> (April 17, 2018).
- Valenzuela-Encinas, César et al. 2009. "Changes in the Bacterial Populations of the Highly Alkaline Saline Soil of the Former Lake Texcoco (Mexico) Following Flooding." *Extremophiles* 13(4): 609–21. <http://link.springer.com/10.1007/s00792-009-0244-4> (March 22, 2018).
- Vandamme, P. et al. 1991. "Revision of Campylobacter, Helicobacter, and Wolinella Taxonomy: Emendation of Generic Descriptions and Proposal of Arcobacter Gen. Nov." *International Journal of Systematic Bacteriology* 41(1): 88–103. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-41-1-88> (March 23, 2018).
- Vonshak, Avigad. 1997. *Spirulina Platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology And Biotechnology*. London: Taylor & Francis. https://books.google.at/books?hl=en&lr=&id=IKaKEqo6pB8C&oi=fnd&pg=PR9&dq=arthrospira&ots=zAm6pa68eZ&sig=PbbGVcEwNOUR-nHqQ_RHEUT4hKk#v=onepage&q&f=false (March 16, 2018).
- Vörös, Lajos, Andrea Mózes, and Boglárka Somogyi. 2009. "A Five-Year Study of Autotrophic Winter Picoplankton in Lake Balaton, Hungary." *Aquatic Ecology* 43(3): 727–34. <http://link.springer.com/10.1007/s10452-009-9272-5> (August 7, 2018).
- Waite, David W. et al. 2017. "Comparative Genomic Analysis of the Class Epsilonproteobacteria and Proposed Reclassification to Epsilonbacteraeota (Phyl. Nov.)." *Frontiers in Microbiology* 8: 682. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00682/full> (September 13, 2018).
- Wang, Xing-Biao et al. 2011. "Degradation of Petroleum Hydrocarbons (C6–C40) and Crude Oil by a Novel Dietzia Strain." *Bioresource Technology* 102(17): 7755–61. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411008121> (October 18, 2018).
- Watanabe, K, M Teramoto, and S Harayama. 1999. "An Outbreak of Nonflocculating Catabolic Populations Caused the Breakdown of a Phenol-Digesting Activated-Sludge Process." *Applied and environmental microbiology* 65(7): 2813–19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10388669> (March 26, 2018).
- Weisse, Thomas. 1993. "Dynamics of Autotrophic Picoplankton in Marine and Freshwater Ecosystems." In Springer, Boston, MA, 327–70. http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-2858-6_8 (August 7, 2018).
- Wetang'ula, Gabriel Nyongesa, and Sigurður S Snorrason. 2005. "Geothermal Wastewater Disposal : Chemical Stress Assessment – Lake Thingvallavatn , Iceland." In *Proceedings World Geothermal Congress*, Antalya, Turkey.
- Willems, A. et al. 1989. "Hydrogenophaga, a New Genus of Hydrogen-Oxidizing Bacteria That Includes *Hydrogenophaga flava* Comb. Nov. (Formerly *Pseudomonas flava*), *Hydrogenophaga Palleronii* (Formerly *Pseudomonas Palleronii*), *Hydrogenophaga pseudoflava* (Formerly *Pseudomonas pseudoflava*" *International Journal of Systematic Bacteriology* 39(3): 319–33. <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-39-3-319> (August 30, 2017).
- Willems, J. A., and J. De Ley E. Falsen, B. Pot, E. Jantzen, B. Hoste, P. Vandamme, M. Gillis*, K. Kersters. 1990. "Acidovorax , a New Genus for *Pseudomonas facilis* , *Pseudomonas* Several Clinical Isolates , with the Species *Acidovorax*." *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 40(4): 384–98.
- Wit, Rutger, and Hans Gernerden. 1987. "Chemolithotrophic Growth of the Phototrophic Sulfur Bacterium *Thiocapsa roseopersicina*." *FEMS Microbiology Letters* 45(2): 117–26. <https://academic.oup.com/femsec/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.1987.tb02347.x> (March 22, 2018).
- Woolard, C.R., and R.L. Irvine. 1995. "Treatment of Hypersaline Wastewater in the Sequencing Batch Reactor." *Water Research* 29(4): 1159–68. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135494002394> (May 18, 2018).
- Woolard, Craig R., and Robert L. Irvine. 1994. "Biological Treatment of Hypersaline Wastewater by a Biofilm of Halophilic Bacteria." *Water Environment Research* 66(3): 230–35. <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1061-4303&volume=66&issue=3&page=230> (May 18, 2018).
- Wu, Xiao Lei et al. 2009. "*Filomicrobium insigne* Sp. Nov., Isolated from an Oil-Polluted Saline Soil." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59(2): 300–305.
- Yoon, J.-H. et al. 2008. "*Hydrogenophaga bisanensis* Sp. Nov., Isolated from Wastewater of a Textile Dye Works."

- International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology* 58(2): 393–97.
<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.65271-0> (August 30, 2017).
- Yurkov, V. et al. 1994. "Phylogenetic Positions of Novel Aerobic, Bacteriochlorophyll a-Containing Bacteria and Description of *Roseococcus thiosulfatophilus* Gen. Nov., Sp. Nov., *Erythromicrobium ramosum* Gen. Nov., Sp. Nov., and *Erythrobacter litoralis* Sp. Nov." *International Journal of Systematic Bacteriology* 44(3): 427–34.
<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-44-3-427> (March 20, 2018).
- Zhang, Guishan, Na Jiang, Xiaoli Liu, and Xiuzhu Dong. 2008. "Methanogenesis from Methanol at Low Temperatures by a Novel Psychrophilic Methanogen, '*Methanolobus psychrophilus*' Sp. Nov., Prevalent in Zoige Wetland of the Tibetan Plateau." *Applied and Environmental Microbiology* 74(19): 6114–20.
- Zhilina, T. N. et al. 1996. "*Spirochaeta alkalica* Sp. Nov., *Spirochaeta africana* Sp. Nov., and *Spirochaeta asiatica* Sp. Nov., Alkaliphilic Anaerobes from the Continental Soda Lakes in Central Asia and the East African Rift." *International Journal of Systematic Bacteriology* 46(1): 305–12.
<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-46-1-305> (September 10, 2018).
- Zhilina, T. N., D. G. Zavarzina, V. V. Kevbrina, and T. V. Kolganovab. 2013. "*Methanocalculus natronophilus* Sp. Nov., a New Alkaliphilic Hydrogenotrophic Methanogenic Archaeon from a Soda Lake, and Proposal of the New Family Methanocalculaceae." *Mikrobiologiya* 82(6): 698–706.
https://www.researchgate.net/profile/Daria_Zavarzina/publication/263301585_Methanocalculus_natronophilus_sp_nov_a_new_alkaliphilic_hydrogenotrophic_methanogenic_archaeon_from_a_soda_lake_and_proposal_of_the_new_family_Methanocalculaceae/links/55758b7108ae (May 26, 2017).
- Zhu, Shan et al. 2013. "*Paracoccus tibetensis* Sp. Nov., Isolated from Qinghai-Tibet Plateau Permafrost." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63(PART 5): 1902–5.
- Zwart, Gabriel et al. 2002. "Typical Freshwater Bacteria: An Analysis of Available 16S rRNA Gene Sequences from Plankton of Lakes and Rivers." *Aquatic Microbial Ecology* 28(2): 141–55.

12. Függelék

Függelék 1. Táblázat – Öt vízminőségi osztály az MSZ 12749 számú magyar szabvány (MSZ 12749: 1993) alapján. Ebben a tanulmányban ez a szabvány szolgált referenciaként a vízkémiai adataink elemzéséhez.

A felszíni vizek vízminőségi osztályai a MSZ 12749 számú magyar szabvány alapján	
I. osztályú, „kiváló” minőségű víz:	Gyakorlatilag a természetes állapotot jelenti. Mesterséges szennyező anyagoktól mentes, tiszta, természetes állapotú víz, amelyben az oldottanyag-tartalom kevés, közel teljes az oxigéntelítettség, a tápanyagterhelés csekély és szennyvízbaktérium gyakorlatilag nincs.
II. osztályú, „jó” minőségű víz:	Külső szennyezőanyagokkal és biológiailag hasznosítható tápanyagokkal kismértékben terhelt, mezotróf jellegű víz. A vízben oldott és lebegő, szerves és szervetlen anyagok mennyisége, valamint az oxigénháztartás jellemzőinek évszakos és napszakos változása az életfeltételeket nem rontja. A vízi szervezetek fajgazdasága nagy, egyedszámuk kicsi, beleértve a mikroorganizmusokat. A víz természetes szagú és színű. Szennyvízbaktérium igen kevés.
III. osztályú, „tűrhető” minőségű víz:	Mérsékelten szennyezett (pl. tisztított szennyvizekkel már terhelt) víz, amelyben a szerves és szervetlen anyagok, valamint a biológiailag hasznosítható tápanyagterhelés eutrofizálódást eredményezhet. Szennyvízbaktériumok következetesen kimutathatók. Az oxigénháztartás jellemzőinek évszakos és napszakos ingadozása, továbbá, az esetenként előforduló káros vegyületek átmenetileg kedvezőtlen életfeltételeket teremthetnek. Az életközösségben a fajok számának csökkenése és egyes fajok tömeges elszaporodása vízszíneződést is előidézhethet. Esetenként szennyezésre utaló szag és szín is előfordul.
IV. osztályú, „szennyezett” minőségű víz:	Külső eredetű szerves és szervetlen anyagokkal, illetve szennyvizekkel terhelt, biológiailag hozzáférhető tápanyagokban gazdag víz. Az oxigénháztartás jellemzői tág határok között változnak, előfordul az anaerob állapot is. A nagy mennyiségű szerves anyag biológiai lebontása, a baktériumok száma (ezen belül a szennyvízbaktériumok uralkodóvá válnak), valamint az egysejtűek tömeges előfordulása jellemző. A víz zavaros, esetenként színe változó, előfordulhat vízvirágzás is. A biológiailag káros anyagok koncentrációja esetenként a krónikus toxicitásnak megfelelő értéket is elérheti. Ez a vízminőség kedvezőtlenül hat a magasabb rendű vízi növényekre és a soksejtű állatokra.
V. osztályú, „erősen szennyezett” minőségű víz:	Erősen terhelt, esetenként toxikus jellegű víz. Különbféle eredetű szerves és szervetlen anyagokkal, szennyvizekkel erősen terhelt, esetenként toxikus víz. Szennyvízbaktérium-tartalma közelíti a nyers szennyvizekéhez. A biológiailag káros anyagok és az oxigénhiány korlátozzák az életfeltételeket. A víz átlátszósága általában kicsi; zavaros. Bűzös, színe jellemző és változó. A bomlástermékek és a káros anyagok koncentrációja igen nagy, a vízi élet számára krónikus, esetenként akut toxikus szintet jelent.

Függelék 2. Táblázat – A felszíni vizek vízminőségére vonatkozó előírások a MSZ 12749 számú magyar szabvány (MSZ 12749: 1993) alapján. Ebben a tanulmányban ez a szabvány szolgált referenciaként a vízkémiai adataink elemzéséhez. A Vízminőségi osztályok a Függelék 1-es táblázatában kerültek tárgyalásra

Vízminőségi jellemzők	Mérték- egység	Az egyes osztályokhoz tartozó határértékek				
		I.	II.	III.	IV.	V.
Oldott oxigén	mg/l	7	6	4	3	<3
Oxigéntelítettség	%	80-100	70-80	50-70	20-50	<20
			100-120	120-150	150-200	>200
Biológiai oxigénigény (BOD ₅)	mg/l	4	6	10	15	>15
Kémiai oxigénigény (KOI _k)	mg/l	12	22	40	60	>60
Ammónium – (NH ₄)	mg/l	0,2	0,5	1,0	2,0	>2,0
Nitrit N – (NO ₂)	mg/l	0,01	0,03	0,1	0,3	>0,3
Nitrát N – (NO ₃)	mg/l	1	5	10	25	>25
Összes foszfor	ug/l	100	200	400	1000	>1000
Ortofoszfát P – (PO ₄)	ug/l	50	100	200	500	>500
Fenolok (fenolindex)	mg/l	2	5	10	20	>20
pH	-	6,5-8,0	8,0-8,5	8,5-9,0	9,0-9,5	>9,5
Vezetőkéesség (20°C)	mS/cm	500	700	1000	2000	>2000

Függelék 3. táblázat - A tenyésztésbe vont baktériumtörzsek és az elemzett parciális 16S rDNS szekvenciájukkal a legmagasabb %-os hasonlóságot és egyben a legmagasabb lefedettséget mutató rokonaik. A százalékos hasonlóságot az átlagosan 960 bázis hosszúságú szekvenciák illesztése során kaptuk; a szekvenciákhoz tartozó kódszámokat az 5.4-es ábrán tüntettük fel. Az azonosított fajokhoz tartozó izolátumok minták közötti megoszlását és számát a táblázat jobb oldala szemlélteti.

Törzs neve	Legközelebbi (leírt) rokon faj	Hasonlóság (%)	BT1S	BT2S	BT3S	BT4S	BT1W	BT2W	BT3W	BT4W	Σ
ST_BT2S_11	<i>Acidovorax delafieldii</i>	99,13	-	2	-	-	-	-	-	-	2
ST_BT3S_02	<i>Adhaeribacter aquaticus</i>	88,98	-	-	1	-	-	-	-	-	1
ST_BT3S_04	<i>Agromyces arachidis</i>	99,15	-	1	1	-	-	-	-	1	3
ST_BT2S_18	<i>Agromyces iriomotensis</i>	98,23	-	1	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT2W_08	<i>Alishewanella jeotgali</i>	98,11	-	-	-	-	-	1	-	-	1
ST_BT2S_206	<i>Alishewanella tabrizica</i>	97,91	-	1	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT1S_04	<i>Arcobacter suis</i>	98,81	1	-	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT4S_30	<i>Arthrobacter flavus</i>	99,89	-	-	-	1	-	-	-	-	1
ST_BT4S_19	<i>Arthrobacter subterraneus</i>	99,48	-	-	-	1	-	-	-	-	1
ST_BT4S_214	<i>Bacillus alkalisediminis</i>	98,95	-	-	-	4	-	-	-	-	4
ST_BT2S_08	<i>Bacillus aryabhattai</i>	99,68	-	1	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT1S_212	<i>Bacillus aurantiacus</i>	99,18	3	1	1	2	-	2	-	1	10
ST_BT2W_01	<i>Bacillus cereus</i>	99,82	-	4	1	2	3	3	-	2	15
ST_BT3S_201	<i>Bacillus cohnii</i>	99,53	-	-	1	-	-	-	-	-	1
ST_BT1S_203	<i>Bacillus horikoshii</i>	99,48	1	-	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT4S_207	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	99,62	-	-	-	1	-	-	-	-	1
ST_BT3S_209	<i>Bacillus pseudofirmus</i>	99,90	1	-	1	2	-	-	-	-	4
ST_BT4S_22	<i>Bacillus simplex</i>	99,79	7	5	7	7	-	-	-	-	26
ST_BT3S_19	<i>Dietzia cercidiphylli</i>	99,78	1	-	1	-	-	-	-	-	2
ST_BT3W_212	<i>Flavobacterium orientale</i>	93,08	-	-	-	-	-	-	1	-	1
ST_BT4S_09	<i>Frigidibacter albus</i>	99,90	2	-	-	2	1	2	1	1	9
ST_BT2S_22	<i>Hydrogenophaga taeniospiralis</i>	98,51	-	-	2	-	-	-	-	-	2
ST_BT3S_29	<i>Microcella putealis</i>	99,50	-	-	1	-	-	-	-	-	1
ST_BT4S_210	<i>Micrococcus aloeverae</i>	99,68	-	-	-	1	-	-	1	-	2
ST_BT1S_28	<i>Micrococcus yunnanensis</i>	100,00	2	-	-	-	-	-	-	-	2
ST_BT1S_02	<i>Nesterenkonia sandarakina</i>	97,62	1	-	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT4W_06	<i>Paracoccus chinensis</i>	98,65	-	-	-	-	-	-	-	3	3
ST_BT3W_14	<i>Paracoccus laeviglucosivorans</i>	97,89	2	-	-	-	2	3	6	2	15
ST_BT3S_07	<i>Paracoccus tibetensis</i>	97,94	2	-	2	-	2	3	2	1	12
ST_BT3S_13	<i>Pararhodobacter aggregans</i>	96,66	-	-	1	-	-	-	-	-	1
ST_BT4S_23	<i>Pseudomonas cuatrocienegasensis</i>	99,61	-	-	1	1	-	-	-	-	2
ST_BT1S_12	<i>Pseudomonas peli</i>	99,90	3	-	2	-	-	-	-	-	5
ST_BT4S_06	<i>Rheinheimera longhuensis</i>	97,41	-	-	-	1	-	-	-	-	1
ST_BT4S_24	<i>Simplicispira limi</i>	98,20	-	-	-	2	-	-	-	-	2
ST_BT4W_01	<i>Sphingomonas olei</i>	99,82	-	-	-	-	-	-	-	2	2
ST_BT2S_13	<i>Streptomyces chumphonensis</i>	98,07	-	1	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT1S_204	<i>Streptomyces sodiiphilus</i>	99,56	1	-	-	-	-	-	-	-	1
ST_BT2S_02	<i>Streptomyces xinghaiensis</i>	99,42	-	2	-	-	-	-	-	-	2
Tenyésztésbe vont baktériumok száma mintánként:			27	19	23	27	8	14	11	13	

Függelék 4. táblázat – A DGGE gélekből kivágott csíkokból nyert (383-466 bázispár hosszúságú) szekvenciákkal legmagasabb egyezést mutató taxonómiai csoportok, filogenetikai törzsenként csoportosítva. A hasonlóság megállapítása a 16s rDNS szekvencia egy részének homológiájára alapult, melyet az EzTaxon adatbázisával vetettünk össze. Az egyedi csíkok neve megegyezik az előzőleg közölt DGGE ábrákon (5.5, 5.6 és 5.7) található számokkal, melyek a kivágott csíkok jelzése mellett szerepel. A táblázatban **zöld betűszín** jelöli a 97% feletti szekvencia egyezést, **kék betűszín** a 95% fölötti egyezést, és fekete, ha az egyezés alacsonyabb volt, mint 95%.

Kivágott csík Phylum	Legközelebbi rokon faj (EzTaxon)	Hasonlóság (%)	Izolálás helye
Bacteroidetes			
W3	GQ441324_s	91.14	Mikrobiális bevonat egy homokos tengerpartról
W3	<i>Balneola vulgaris</i> (AQXH01000003)	83.88	Felszíni vizek a Földközi tenger ÉNy-i részének partmenti régiójából
Cyanobacteria			
B2	<i>Arthrospira maxima</i> (AF329392)	99.76	-
B10, W5, S2	<i>Arthrospira indica</i> (AY575931)	100	-
W7, S1, S9	<i>Anabaenopsis elenkinii</i> (AM773307)	99.48	néhai Texcoco tó területe, Mexico
Deferribacteres			
W8	FJ638568_s (Deferribacteraceae)	99.78	Hévízforrás üledéke, Taiwan
Firmicutes			
B17	<i>Planococcus rifietoensis</i> (AJ493659)	91	Kénes víz, zöld-piros alga bevonat darabokkal, Campania, IT
Fusobacteria			
B8	DQ206413_s (Fusobacteriaceae)	96.01	Alkalikus-szalinikus tóvíz, Mono tó, Kalifornia
B8	<i>Clostridium rectum</i> (X77850)	90.97	-
Planctomycetes			
B4	FJ820433_s (Planctomycetaceae)	96.94	Wuliangsuhai tó (sekély, hipertrofikus, édesvíz)
B5	AB355065_s (Planctomycetaceae)	99.03	Üledék, Manzallah tó, Egyiptom
Proteobacteria			
B7	<i>Loktanela vestfoldensis</i> (ARNL01000008)	99.44	Mikrobiális bevonat, Anktartisz (Ace és Pendant tavak)
B15	<i>Paracoccus haeundaensis</i> (AY189743)	99.75	Haeundae tengerpart, Dél-Korea
B18	<i>Paracoccus marcusii</i> (Y12703)	100	-
W6	<i>Pseudorhodobacter wandonensis</i> (JN247434)	97.2	kidőlt fatörzsek, Wando tengerpart, Dél-Korea
	<i>EF540436_s</i> (Rhodobacteraceae)	99.74	Félkokszos talaj, Észtország, ÉK-i régió
S6	DQ836761_s (Azoarcus)	95.09	Denitrifikáló bioreaktor
S7	HQ703857_s (Azoarcus)	95.42	Qinghai tó üledék
S6, S7	<i>Azoarcus buckelii</i> (AJ315676)	94.47	Élőhelyek különböző monociklusos aromás szubsztátokon
B11	<i>Curvibacter lanceolatus</i> (AB021390)	99.51	-
B6	<i>Hydrogenophaga bisanensis</i> (EF532793)	98.22	Textilfestőüzem szennyvize
W2, S8	<i>Hydrogenophaga taeniospiralis</i> (AF078768)	96.29	Talajminták Barcelona közeléből (Spanyolország)
B1	EU592403_s (Alcaligenaceae)	94.41	hiperszalinikus víz
B9	<i>Vibrio variabilis</i> (GU929924)	90.62	<i>Palythoa caribaeorum</i> (fehér korall) nyálkája
S10	<i>Desulfuromusa succinioxidans</i> (X79415)	78.03	Guayamas medence (Californiai öböl)
WS3			
S10	JQ738939_s	97.64	Üledékfelszíni kövek, Lonar tó, India
Incertae Sedis			
S3	AB513440_s	93.35	Poliklórozott dioxinnal kezelt komposztálóból dúsító kultúra
S5	FJ717262_s	88.72	Tengeri üledék Cullercoats-ból (Northumberland, UK)

Függelék 5. táblázat – A molekuláris molekuláris klóntárak egyedi ARDRA csoportjai, azok közül az azonosításra került csoportok, és a reprezentáns molekuláris klónok adatbázisokban való azonosítása után kapott OTU-k száma a molekuláris klóntáron belül. Előfordulhatott, hogy két különböző hasítási mintázattal rendelkező ARDRA csoport ugyanahoz a fajhoz tartozott. Az utolsó oszlop azt szemlélteti, hogy a 96 molekuláris molekuláris klón közül hányból tudtunk hasznos filogenetikai információhoz jutni.

Klóntár	Csoportok	Azonosításra került	Fajok száma	96/X
BC_BT1W	21	18	8	96/93
BC_BT1S	65	59	43	96/88
BC_BT1B	61	58	45	96/89
BC_BT4W	39	34	18	96/81
BC_BT4S	71	70	47	96/81
BC_BT4B	46	39	28	96/83
AC_BT1W	14	14	9	96/94
AC_BT1S	21	16	12	96/89
AC_BT1B	19	19	5	96/95
AC_BT4W	18	14	9	96/80
AC_BT4S	37	13	8	96/71
AC_BT4B	29	16	10	96/82

Függelék 6. táblázat – A Barex tőrendszerből 2012 júliusában vett minták klóntárakkal való vizsgálatával kimutatott nemzetségek, a hozzájuk tartozó, mintánkénti relatív abundancia értékek. Az utóbbi egy 0-1 közötti szám, melynek nagyságát színek jelzik: zöld=0, piros=1, átmeneti szín= sárga. Helytakarékosság miatt az azonosíthatatlan nemzetségeket nem tüntettük fel, de a relatív abundanciákba bele lettek számolva az értékeik. A nemzetségszintű hasonlóság küszöbértéke 95%-os szekvencia-egyeztetés volt.

BACTERIA							BACTERIA						
Nemzetség	BC_BT 1B	BC_BT 1S	BC_BT 1W	BC_BT 4B	BC_BT 4S	BC_BT 4W	Nemzetség	BC_BT 1B	BC_BT 1S	BC_BT 1W	BC_BT 4B	BC_BT 4S	BC_BT 4W
Aquiluna	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.074	Glycocalis	0.000	0.011	0.000	0.048	0.000	0.025
Ilumatobacter	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	Herbaspirillum	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	0.000
Nitriliruptor	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	Hydrogenophaga	0.157	0.102	0.000	0.000	0.012	0.025
Pontimonas	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	Hyphomicrobium	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Flavobacterium	0.034	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	Hyphomonas	0.101	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Wandonia	0.011	0.000	0.000	0.012	0.000	0.000	Marinobacter	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Nonlabens	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	Marinospirillum	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.000
Planktosalinus	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	Methylococcoides	0.045	0.034	0.000	0.000	0.000	0.000
Geofilum	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	Nitrospira	0.000	0.011	0.000	0.024	0.000	0.000
Paludibacter	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	Pararhodobacter	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Owenweeksia	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	Pseudofulvimonas	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Mariniphaga	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	Rehabacterium	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000
Arthrosira	0.000	0.000	0.871	0.217	0.037	0.642	Reinekea	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000
Anabaenopsis	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.037	Rheinheimera	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fibrobacter	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	Rhodobaca	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Clostridium	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	Rhodobacter	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Eubacterium	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	Rhodobaculum	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000
Paenoclostridium	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	Roseovarius	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Longimicrobium	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	Seohaecicola	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	0.000
Aeromonas	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Tabrizicola	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Alishewanella	0.011	0.000	0.000	0.036	0.012	0.000	Thioalkalivibrio	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000
Alkalimonas	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	Thiobacillus	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000
Aquimonas	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Thiogranum	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000
Arsukibacterium	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Thiomargarita	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000
Azoarcus	0.079	0.227	0.000	0.000	0.136	0.000	Vibrio	0.022	0.000	0.000	0.084	0.000	0.000
Cereibacter	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Zhizhongheella	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Comamonas	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	Aminivibrio	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000
Curvibacter	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
Defluviimonas	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012	0.000	ARCHAEA						
Desulfatiglans	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	Nemzetség	AC_BT 1B	AC_BT 1S	AC_BT 1W	AC_BT 4B	AC_BT 4S	AC_BT 4W
Desulfonatronum	0.000	0.023	0.000	0.036	0.000	0.000	Methanosaeta	0.684	0.382	0.468	0.305	0.000	0.038
Devosia	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Methanocalculus	0.305	0.382	0.160	0.354	0.789	0.225
Filomicrobium	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Methanolobus	0.011	0.022	0.000	0.024	0.000	0.000
Gemmobacter	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	Methanobacterium	0.000	0.022	0.106	0.012	0.000	0.038
Geothallobacter	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000							

Függelék 7. táblázat – A Barex tőrendszerből 2013 szeptemberében vett minták piroszekvenálással való vizsgálatával kimutatott nemzetségek, vagy nemzetség szintű csoportok és a hozzájuk tartozó, mintánkénti relatív abundancia értékek. Az utóbbi egy 0-1 közötti szám, melynek nagyságát színkód jelzi: zöld=0, piros=1, átmeneti szín= sárga. Helytakarékosság miatt az azonosítatlan nemzetségeket nem tüntettük fel, de a relatív abundanciákba bele lettek számolva az értékeik. A nemzetségszintű hasonlóság küszöbértéke 95%-os szekvencia-egyezés volt.

Nemzetség	BT1S	BT1W	BT4S	BT4W	Nemzetség	BT1S	BT1W	BT4S	BT4W
Methanocalculus	0.0163	0	0.0148	0	Glycocalulis	0.0002	0	0	0.0282
Methanolinea	0.0225	0	0.0611	0	Hyphomonas	0	0.0003	0	0.0017
Methanosaeta	0.0579	0	0.0385	0	Salinarimonas	0	0	0	0.0003
Methanobolus	0	0	0.0009	0	Devosia	0	0	0	0.0003
Thermoanaerobaculum	0.0004	0	0.0011	0	Vasilyevaea	0	0	0	0.0003
CL500-29_marine_group	0	0	0	0.0046	Defluviimonas	0	0	0	0.0012
Illumatobacter	0	0	0	0.0243	Paracoccus	0	0	0	0.001
Candidatus_Microthrix	0	0	0	0.0009	Rhodobaca	0.0002	0	0	0.0072
Iamia	0	0	0	0.0046	Seohaecicola	0	0.0004	0	0.0079
Mycobacterium	0.0002	0	0.0012	0	Roseococcus	0	0.0076	0	0.0147
Candidatus_Aquiluna	0	0.0096	0	0.0104	Oceanibaculum	0	0	0	0.0004
Candidatus_Limnoluna	0	0	0	0.0009	Candidatus_Captivus	0	0	0	0.001
ML602J-51	0	0	0	0.006	Candidatus_Hepaticicola	0	0.0005	0	0
Nitriliruptor	0	0	0.0004	0.0013	Porphyrobacter	0	0.0005	0	0.0043
Dysgonomonas	0	0	0.0004	0	Polymorphobacter	0	0	0	0.0006
Paludibacter	0.0004	0	0.0007	0.0004	Sphingobium	0	0	0	0.0029
Blvii28_wastewater-sludge_group	0.007	0	0.0035	0	GKS98_freshwater_group	0	0.0057	0	0.0209
vadinBC27_wastewater-sludge_group	0.001	0.0004	0	0	MWH-UniP1_aquatic_group	0	0	0	0.0062
Mariniphaga	0.0008	0	0.0004	0	Aquabacterium	0	0	0.0005	0
Belliella	0	0.0028	0	0.002	Hydrogenophaga	0.0004	0.0015	0	0.0115
Cecembia	0	0.0003	0.0005	0.001	Leptothrix	0	0	0	0.0016
Mariniradius	0	0	0	0.0046	Limnohabitans	0	0	0	0.0084
Rhodonellum	0	0	0.0041	0.0003	Azoarcus	0.004	0	0.0012	0
Leadbetterella	0	0	0	0.0003	Peredibacter	0	0	0	0.0037
Candidatus_Amoebophilus	0.0024	0	0	0	Bdellovibrio	0.0004	0	0	0.0006
Reichenbachella	0.0008	0	0.0014	0	Syntrophorhabdus	0.0018	0	0.0039	0
Fluviicola	0	0	0	0.0012	Desulfatiglans	0.0346	0	0.0383	0
Owenweeksia	0	0	0	0.0022	Desulfatitalea	0	0	0.0007	0
Flavobacterium	0.0014	0.1247	0	0.018	Desulfococcus	0.0002	0	0.0012	0
Chitinophaga	0	0	0	0.0003	Desulfosarcina	0.0111	0	0.0009	0
Pedobacter	0	0	0.0025	0	SEEP-SRB1	0.0008	0	0	0
Ignavibacterium	0.0018	0	0.0021	0	Desulfobulbus	0.0004	0	0	0
Levilinea	0.0012	0	0	0	Desulfocapsa	0.0004	0	0	0
Pelolinea	0.001	0	0.0026	0	Desulfurivibrio	0.0042	0	0	0
Candidatus_Chlorothrix	0	0	0.0002	0.0003	Desulfonatronum	0.0054	0	0.0016	0
Dehalogenimonas	0	0	0.0004	0	Desulfuromonas	0.001	0	0.0032	0
Synechococcus	0	0	0	0.003	Desulfuromusa	0.003	0	0.0004	0
Arthrospira	0.0018	0.3498	0	0.1564	Pelobacter	0.0044	0	0.0012	0
Anabaenopsis	0.0004	0	0	0.0009	Smithella	0.0209	0	0.0094	0
Truepera	0.002	0	0.0004	0.0007	Syntrophus	0.0091	0	0.0092	0
possible_genus_06	0	0	0	0.0009	Desulforhabdus	0.0004	0	0.0004	0
Bacillus	0.0004	0	0.0018	0	Arcobacter	0	0.1707	0	0
Planococcus	0	0	0.0004	0	Sulfuricurvum	0.001	0	0	0
Christensenellaceae_R-7_group	0	0.0005	0	0	Alishewanella	0	0.0143	0	0
Clostridium_sensu_stricto_1	0.001	0	0	0	Idiomarina	0	0	0.0012	0
Anoxytnatronum	0.0014	0	0	0	Psychromonas	0.0014	0	0	0
Dethiosulfatibacter	0.0022	0	0.0009	0	Rheinheimera	0	0	0.0019	0
Fusibacter	0.005	0	0	0	Thiocapsa	0.0042	0	0.0005	0
Desulfatibacter	0	0	0.0007	0	Thioalkalivibrio	0.0276	0	0.0026	0.0013
Fastidiosipila	0.002	0	0.0007	0	Coxiella	0	0	0.0004	0
Ruminiclostridium_1	0.0006	0	0	0.0007	Methylobacterium	0.0089	0	0.0053	0.0102
Ruminococcaceae_UCG-012	0.0022	0	0.0023	0	Nitricola	0	0.0628	0	0
Candidatus_Contubernalis	0.004	0	0.0004	0	Pseudospirillum	0	0	0	0.0055
Dethiobacter	0.0135	0	0.0086	0	Azomonas	0	0	0.0004	0
Erysipelothrix	0.002	0.0005	0.0028	0.0019	Vibrio	0	0.0109	0	0
Erysipelotrichaceae_UCG-004	0	0	0	0.0082	Candidatus_Competibacter	0.0012	0	0	0
Turcibacter	0.0044	0	0	0	Brevinema	0	0	0.0005	0
Sebaldeella	0.001	0	0	0	Salinispira	0.0006	0	0.0002	0
Victivallis	0.0002	0	0.0004	0.0001	Spirochaeta_2	0.0097	0	0.0056	0
SM1A02	0	0	0.0005	0	Thermovirga	0.0002	0	0.0152	0
Blastopirellula	0	0	0	0.0024	Acholeplasma	0	0.0028	0.0004	0
Pir4_lineage	0	0	0	0.0014	Opitutus	0	0	0	0.0004
Pirellula	0.0002	0	0	0.0073	Cerasicoccus	0.0002	0	0	0.0016
Planctomyces	0	0	0	0.0052	Haloferula	0	0	0	0.0003
Rhodopirellula	0	0	0	0.0003	Luteolibacter	0.0004	0	0	0

ADATLAP

a doktori értekezés nyilvánosságra hozatalához*

I. A doktori értekezés adatai

A szerző neve: Szirányi Barbara Mária

MTMT-azonosító: 10059147

A doktori értekezés címe és alcíme: Energetikai célokra használt termálvizek befogadására szolgáló tározótavak mikrobiális diverzitása

DOI-azonosító: 10.15476/ELTE.2019.086

A doktori iskola neve: Biológia Doktori Iskola

A doktori iskolán belüli doktori program neve: Zootaxonómia, állatökológia, hidrobiológia

A témavezető neve és tudományos fokozata: Dr. Borsodi Andrea, habilitált egyetemi docens

A témavezető munkahelye: ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék

II. Nyilatkozatok

1. A doktori értekezés szerzőjeként

a) hozzájárulok, hogy a doktori fokozat megszerzését követően a doktori értekezésem és a tézisek nyilvánosságra kerüljenek az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban. Felhatalmazom a Természettudományi kar Dékáni Hivatal Doktori, Habilitációs és Nemzetközi Ügyek Csoportjának ügyintézőjét, hogy az értekezést és a téziseket feltöltse az ELTE Digitális Intézményi Tudástárba, és ennek során kitöltse a feltöltéshez szükséges nyilatkozatokat.

b) kérem, hogy a mellékelt kérelemben részletezett szabadalmi, illetőleg oltalmi bejelentés közzétételéig a doktori értekezést ne bocsássák nyilvánosságra az Egyetemi Könyvtárban és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban;

c) kérem, hogy a nemzetbiztonsági okból minősített adatot tartalmazó doktori értekezést a minősítés (dátum)-ig tartó időtartama alatt ne bocsássák nyilvánosságra az Egyetemi Könyvtárban és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban;

d) kérem, hogy a mű kiadására vonatkozó mellékelt kiadó szerződésre tekintettel a doktori értekezést a könyv megjelenéséig ne bocsássák nyilvánosságra az Egyetemi Könyvtárban, és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban csak a könyv bibliográfiai adatait tegyék közzé. Ha a könyv a fokozatszerzést követően egy évig nem jelenik meg, hozzájárulok, hogy a doktori értekezésem és a tézisek nyilvánosságra kerüljenek az Egyetemi Könyvtárban és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban.

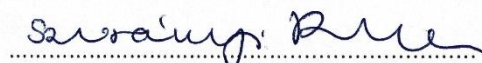
2. A doktori értekezés szerzőjeként kijelentem, hogy

a) az ELTE Digitális Intézményi Tudástárba feltöltendő doktori értekezés és a tézisek saját eredeti, önálló szellemi munkám és legjobb tudomásom szerint nem sértem vele senki szerzői jogait;

b) a doktori értekezés és a tézisek nyomtatott változatai és az elektronikus adathordozón benyújtott tartalmak (szöveg és ábrák) mindenben megegyeznek.

3. A doktori értekezés szerzőjeként hozzájárulok a doktori értekezés és a tézisek szövegének plágiumkereső adatbázisba helyezéséhez és plágiumellenőrző vizsgálatok lefuttatásához.

Kelt: 2019.04.24.



a doktori értekezés szerzőjének aláírása

*ELTE SZMSZ SZMR 12. sz. melléklet